

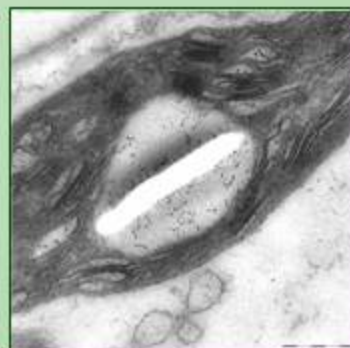
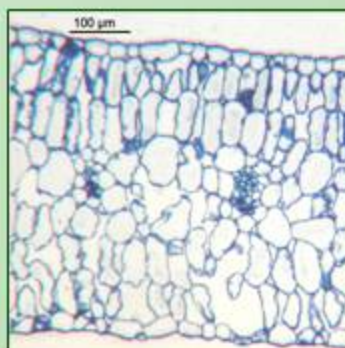
*Untersuchungen zur Salztoleranz
von *Aster tripolium* L.
und deren Beeinflussung durch
erhöhte atmosphärische CO₂-Konzentration*



Dissertation

vorgelegt von Nicole Geißler

am Fachbereich 08 der Justus-Liebig-Universität Gießen



**Untersuchungen zur Salztoleranz
von *Aster tripolium* L.
und deren Beeinflussung durch
erhöhte atmosphärische CO₂-Konzentration**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades
Doktor der Naturwissenschaften
Dr. rer. nat.**

**am Fachbereich 08 (Fachgebiet Biologie) der
Justus-Liebig-Universität Gießen**

**vorgelegt von
Nicole Geißler**

Gießen, im Oktober 2006

D 26

Dekan: Prof. Dr. Peter R. Schreiner

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Dr. h.c. Hans-Jürgen Jäger

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Edwin Pahlich

„The single most important biological contribution to world peace will be to produce plants which grow effectively in quite salty water.“

J. Bronowski

(Britischer Wissenschaftler und Philosoph)

„I can see no more important development in the critical area of food needs than plants tolerant of salt water.“

Dr. N. Borlaug

(Agrarwissenschaftler und Friedensnobelpreisträger 1970)

INHALTSVERZEICHNIS

1	Einleitung	1
2	Material und Methoden	10
2.1	Pflanzenmaterial und Pflanzenkulturen	10
2.1.1	Hydrokulturen in Open-Top-Kammern	10
2.1.2	Gewächshaus-Hydrokulturen	11
2.2	Bestimmung der Keimungsrate bei verschiedenen Salinitäten	14
2.3	Ernte der Pflanzen und Bestimmung der Wachstumsparameter	14
2.4	Bestimmung des Blattwasserpotentials	15
2.5	Gaswechsellmessungen	15
2.6	Bestimmung des Chlorophyll- und Carotinoidgehalts	16
2.7	Bestimmung des osmotischen Potentials	16
2.8	Bestimmung des Gehalts an Alkali- und Erdalkalimetallen	16
2.9	Bestimmung des Anionengehalts	17
2.10	Bestimmung des Kohlenstoff-, Stickstoff- und Schwefelgehalts	17
2.11	Bestimmung des Kohlenhydratgehalts	17
2.11.1	Gehalt an löslichen Gesamt-Kohlenhydraten	17
2.11.2	Gehalt an Saccharose, Glucose und Fructose	18
2.12	Bestimmung des Aminosäuregehalts	18
2.13	Bestimmung des Gehalts an löslichem Gesamt-Protein	19
2.14	Analyse des Proteoms	19
2.14.1	2D-Gelelektrophorese	19
2.14.2	„Matrix assisted Laser Desorption Ionisation Time-of-flight Mass Spectrometry“ (MALDI-TOF-MS)	21
2.15	Bestimmung der Aktivitäten antioxidativer Enzyme	21
2.15.1	Enzymextraktion	21
2.15.2	Bestimmung der Superoxid-Dismutase (SOD)-Aktivität	22
2.15.3	Bestimmung der Ascorbat-Peroxidase (APO)-Aktivität	22
2.15.4	Bestimmung der Glutathion-S-Transferase (GST)-Aktivität	22
2.16	Bestimmung der Aktivitäten von P-ATPase, V-ATPase und F-ATPase	23

2.17	Strukturanalytik	23
2.17.1	Lichtmikroskopie und Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)	23
2.17.2	Rasterelektronenmikroskopie	25
2.18	Statistik	25
3	Ergebnisse	26
3.1	Wachstumsparameter	26
3.1.1	Keimungsrate, äußeres Erscheinungsbild und Biomasseproduktion	26
3.1.2	Überlebensrate	28
3.1.3	Andere Wachstumsparameter	29
3.2	Wasserpotential	29
3.3	Gaswechsel	30
3.4	Chlorophyll- und Carotinoidgehalt	33
3.5.	Osmotisches Potential	35
3.6	Gehalt an Alkali- und Erdalkalimetallen	36
3.7	Anionengehalte	40
3.8	Kohlenstoff-, Stickstoff- und Schwefelgehalt	42
3.9	Kohlenhydratgehalt	44
3.10	Aminosäuregehalt	45
3.11	Osmotische Bilanz	46
3.12	Gehalt an löslichem Gesamtprotein	47
3.13	Analyse des Proteoms	48
3.13.1	Prozentuale Anteile der „spots“ (Proteinflecken) am Gesamtprotein	48
3.13.2	Identifizierung ausgewählter „spots“	53
3.14	Bestimmung der Aktivität von Enzymen, die eine salzbedingt erhöhte Expression aufweisen	60
3.14.1	Aktivitäten antioxidativer Enzyme	60
3.14.1.1	Superoxid-Dismutase (SOD)	60
3.14.1.2	Ascorbat-Peroxidase (APO)	60
3.14.1.3	Glutathion-S-Transferase (GST)	60
3.14.2	Aktivitäten von P-ATPase, V-ATPase und F-ATPase	63
3.15	Strukturanalytik	64
3.15.1	Blattanatomie	64
3.15.2	„Leaf Mass to Area Ratio“ (LMA)	68

3.15.3 Ultrastruktur der Blätter	69
4 Diskussion	82
5 Zusammenfassung	100
6 Literaturverzeichnis	103
Danksagung	
Anhang 1 (ergänzende Versuchsergebnisse zu den Sommerkulturen)	
Anhang 2 (Versuchsergebnisse der Winterkulturen)	

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Kulturansätze

[CO ₂] _{380 (520)}	natürlich atmosphärische CO ₂ -Konzentration (erhöhte CO ₂ -Konzentration)
Kontrolle _{380 (520)}	Kontrolle, bei natürlich atmosphärischer CO ₂ -Konzentration (erhöhter CO ₂ -Konzentration) kultiviert
125 (250, 375, 500)	125 (250, 375, 500) mol m ⁻³ NaCl, bei natürlich atmosphärischer CO ₂ -Konzentration (erhöhter CO ₂ -Konzentration) kultiviert
NaCl _{380 (520)}	

Chemikalien

ACN	Acetonitril
DTT	Dithiotreithol
EDTA	Ethylendiamin-Tetraessigsäure
ERL	„epoxy resin of low viscosity“
FAA	1,85% Formaldehyd / 45% Ethanol / 5% Eisessig
FMOC-Cl	9-Fluorenylmethyl-chloroformiat
HEPES	N-2-Hydroxyethylpiperazin-N'-2-ethansulfonsäure
PIPES	Piperazin-N,N'-bis(2-ethansulfonsäure)
TCA	Trichlor-Essigsäure
Tris	Tris [Hydroxymethyl]-Aminomethan

Sonstige Abkürzungen

Ala	Alanin
APO	Ascorbat-Peroxidase
Arg	Arginin
Asn	Asparagin
Asp	Asparaginsäure
ATP	Adenosin-Triphosphat
Ba	Blattspreite adult
Bj	Blattspreite juvenil
cDNA	komplementäre Desoxyribonucleinsäure („complementary desoxyribonucleic acid“)
Gln	Glutamin
Glu	Glutaminsäure
Gly	Glycin
GST	Glutathion-S-Transferase
HPLC	Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie („high pressure liquid chromatography“)
HSP	Hitzeschockprotein
HW	Hauptwurzel
IEF	Isoelektrische Fokussierung
Ile	Isoleucin
IPCC	„Intergovernmental Panel on Climate Change“
IPG	„immobilized pH gradient“
kDa	Kilodalton
Leu	Leucin
LHC	Lichtsammelfalle („light harvesting complex“)
LM	Lichtmikroskop(ie)
LMA	„leaf mass to area ratio“

MALDI-TOF-MS	„matrix assisted laser desorption ionisation time-of-flight mass spectrometry“
MG	Molekulargewicht
NADP	Nicotinsäureamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat
NW	Nebenwurzel
ODS	Octadecyl-Silan
PEP-Carboxylase	Phosphoenolpyruvat-Carboxylase
Phe	Phenylalanin
pI	isoelektrischer Punkt
P _i	anorganisches Phosphat
PPase	Pyrophosphatase
ppm	„parts per million“
Pro	Prolin
PS II	Photosystem II
REM	Rasterelektronenmikroskop(ie)
ROS	reaktive Sauerstoff-Spezies („reactive oxygen species“)
rpm	„rotations per minute“
Rubisco	Ribulose-1,5-Bisphosphat-Carboxylase/Oxygenase
Sa	Blattstiel adult
SDS-PAGE	Natrium-Dodecylsulfat („sodium dodecyl sulfate“)-Polyacrylamid-Gelelektrophorese
Ser	Serin
Sj	Blattstiel juvenil
SOD	Superoxid-Dismutase
TEM	Transmissionselektronenmikroskop(ie)
Thr	Threonin
Tyr	Tyrosin
U	„units“
UNEP	Umweltprogramm der Vereinten Nationen („United Nations Environment Programme“)
Val	Valin
WUE	Wassernutzungseffizienz („water use efficiency“) der Photosynthese

1 EINLEITUNG

Die ariden und semiariden Klimazonen der Erde weisen eine geringe globale Kapazität für Photosynthese und Biomasseproduktion auf (Larcher, 2001), während gleichzeitig zunehmende Desertifikation, Landdegradation und abnehmende Niederschlagsmengen den Nutzpflanzenanbau in diesen Regionen immer stärker beschränken (Choukr-Allah & Harrouni, 1996; Immel, 2006). Letzteres ist u.a. auf Bodenversalzung zurückzuführen, die heute ca. 7% der globalen Landfläche betrifft (Szabolcs, 1994; Ghassemi et al., 1995; Glenn et al., 1998). Bewässertes Ackerland ist weltweit - je nach Schätzung - sogar zu 20-50% von sekundärer Versalzung betroffen (Flowers, 1999; Tanji, 2002; Hu & Schmidhalter, 2005), die zumeist durch ungenügende Bewässerungspraktiken hervorgerufen wird (Choukr-Allah, 1996; Pitman & Läuchli, 2002). Als Folge von Desertifikation und Versalzung nehmen zudem die auf der Erde ohnehin begrenzt vorhandenen Süßwasserreserven weiter ab (Ben-Asher, 1993; Lieth & Moschenko, 1998; Güth, 2001; Hamdy, 2002). Gleichzeitig wächst die Weltbevölkerung zur Zeit etwa alle 14 Jahre um eine weitere Milliarde Menschen (Deutsche Stiftung Weltbevölkerung, 2005; Vereinte Nationen, 2005), was den Bedarf an kultivierbarem Ackerland und an Süßwasser stetig erhöht.

Um diese Probleme lösen zu können, empfiehlt es sich, Böden zu entsalzen und saline Standorte dauerhaft nutzbar zu machen. Die Erhöhung der Salz- und Trockentoleranz konventioneller Nutzpflanzen durch Züchtung und Gentechnik ist bislang wenig erfolgreich (Koyro & Huchzermeyer, 1999b; Tester & Davenport, 2003; Flowers, 2004) und erscheint somit nur sehr bedingt geeignet, um das genannte Ziel zu erreichen. Es liegt daher nahe, nach Alternativen zu suchen und das natürliche Potential von (Xero-) Halophyten zu nutzen (Boer & Glid-don, 1998; Lieth et al., 1999). Hierbei handelt es sich um salztolerante Pflanzen, die an Standorten gedeihen, welche natürlicherweise von Salinität betroffen sind, v.a. an Meeresküsten, aber auch in ariden und semiariden Inlandsbereichen. Sie sind in der Lage, ihren gesamten Lebenszyklus in NaCl-reichen Substraten zu vollenden (Schimper, 1891; Lieth, 1999). Die nachhaltige landwirtschaftliche Bewirtschaftung salzhaltiger Böden mit Halophyten im Rahmen saliner Bewässerungssysteme gelangt zunehmend in das Interesse der Forschung (Pasternak, 1990; Lieth et al., 1999; Koyro, 2003; Liu et al., 2006), denn das Nutzungspotential dieser Pflanzen - auch „cash-crop“-Halophyten genannt - ist groß und nur wenig ausgeschöpft: Weltweit gibt es ca. 2500 Halophytenarten (Lieth et al., 1999; Koyro, 2006); bis heute wird nur ein Bruchteil davon in größerem Umfang in einigen Pilotprojekten kultiviert. Dabei gibt es vielfältige ökonomische und ökologische Nutzungsmöglichkeiten, z.B.:

- als Nahrungsmittel: z.B. Blätter von *Aster tripolium* (s.u.), Sprosse und Samen (ölhaltig) von *Salicornia* spec., Früchte von *Avicennia marina* und *Avicennia germinans* (Güth, 2001; Lieth & Mochtchenko, 2002);
- als Nahrungspflanzen für Viehherden: z.B. verschiedene *Atriplex*-Arten, *Spartina alterniflora*, *Leptochloa fusca* (Güth, 2001; Lieth & Mochtchenko, 2002; Loch et al., 2003);
- für Holz, Fasern und Reet: z.B. verschiedene Mangrovenarten, *Tamarix* spec., *Spartina alterniflora*, *Juncus maritimus* (Güth, 2001; Lieth & Mochtchenko, 2002);
- als Zierpflanzen: z.B. *Aster tripolium*, *Limoniastrum monopetalum*, *Sesuvium portulacastrum*, *Tamarix* spec. (Güth, 2001; Lieth & Mochtchenko, 2002);
- zum Küstenschutz und zur Erhöhung der Biodiversität: z.B. Mangroven: Sie schützen Küstengebiete vor Erosion, Sturmfluten und Tsunamis und stellen außerdem ein äußerst wertvolles, aber auch hochgradig gefährdetes Ökosystem dar (Hogarth, 1999; Geißler, 2000; Rechenburg, 2005);
- zum Schutz der Grund- bzw. Süßwasserressourcen durch die Nutzung von salinem Wasser (Boer & Gliddon, 1998; Lieth et al., 1999): Dies ist nicht nur ökologisch von Bedeutung, denn das Problem der Wasserknappheit birgt ein nicht zu unterschätzendes gesellschaftliches Konfliktpotential (Güth, 2001; Bohannon, 2006);
- zur Begrünung, Desertifikationsbekämpfung und Wiedernutzbarmachung von degradiertem Land: Das Vorhandensein einer Vegetationsdecke ist ein entscheidender Faktor, um Bodenerosion und Desertifikation zu verhindern (Lal, 2001). Viele Halophyten sind schnell wachsende Pflanzen, können in kurzer Zeit unbewachsenes Land besiedeln (z.B. *Sesuvium portulacastrum*, *Batis maritima*, *Mesembryanthemum crystallinum*) und eignen sich daher zur Begrünung, Erosions- und Desertifikationsbekämpfung (Güth, 2001; Lieth & Mochtchenko, 2002; Loch et al., 2003). Außerdem können sie den Salzgehalt des Bodens verringern und damit dessen Qualität verbessern (Cuartero et al., 2002; Ghali, 2002; Loch et al., 2003).

Ein vielversprechender „cash-crop“-Halophyt ist *Aster tripolium*. Für die dauerhafte Nutzung eignet sich diese Art als Nahrungsmittelpflanze (Blätter roh als Salat oder gekocht als Gemüse), als Futter- und als Zierpflanze (Güth, 2001, Lieth & Mochtchenko, 2002). Außerdem gibt es vereinzelte Hinweise darauf, daß die Strandaster zur Heilung von Augenkrankheiten eingesetzt werden kann (Liber Herbarium II, 2005). *A. tripolium* wird bereits in Holland, Belgien, Portugal und Pakistan profitabel genutzt (Güth, 2001, Lieth & Mochtchenko, 2002). In den

Niederlanden werden jährlich ca. 110000 kg vermarktet und als besondere Delikatesse angeboten (Güth, 2001). In Pakistan kultiviert man sie besonders erfolgreich im Winter, wenn Ertragsquantität und –qualität anderer Arten wie z.B. *Leptochloa fusca* deutlich sinken (Aslam et al., 1999). Die Strandaster zeigt – auch verglichen mit konventionellen Nutzpflanzen – eine hohe Produktivität (Martins et al., 1999, in Güth, 2001). Ihr Kohlenhydrat-, Protein- und Fettgehalt macht sie zu einer ernährungsphysiologisch sehr wertvollen Pflanze (Güth, 2001). Hinsichtlich ihrer dauerhaften Nutzung besteht allerdings das Problem, daß saline Standorte ein schwer zu regulierendes System darstellen; das Maß der Bodenentsalzung sowie Ernteerträge und Nährwert variieren bei der Strandaster je nach Salinität, Bodenwassergehalt, Bodenzusammensetzung und Lichtangebot (Martins et al., 1999, in Güth, 2001; Bogemans, 2000). Zur Zeit wird die Kultivierung von *A. tripolium* versuchsweise an verschiedenen Standorten erprobt, denn es existieren nur wenig Kenntnisse über ihre Ansprüche an Standortfaktoren und Klimabedingungen, über ihre Salztoleranzgrenze und Salztoleranzmechanismen sowie über die Wechselbeziehungen zwischen den genannten Faktoren. Diese Informationen sind jedoch unverzichtbar, um eine nachhaltige dauerhafte Nutzung zu gewährleisten und eine weitere, durch die Kultivierung hervorgerufene Bodenversalzung zu vermeiden.

Während die Ansprüche der Strandaster an Standortfaktoren und Klimabedingungen empirisch leicht zu ermitteln sind, gilt dies nicht für ihre Salztoleranzgrenze und Salztoleranzmechanismen. Die vorliegende Studie soll daher Informationen über die beiden letztgenannten Faktoren liefern. Diese werden auf salinen Substraten v.a. durch folgende wachstumsbegrenzende Faktoren bestimmt (Greenway & Munns, 1980; Marschner, 1995; Koyro, 2003):

1. Osmotische Effekte bzw. Wasserdefizit:

Da saline Substrate ein niedrigeres Wasserpotentiel aufweisen als Süßwasserböden, wird die Wasseraufnahme erschwert, und es entsteht ein Wasserdefizit in der Pflanze (Kreeb, 1996).

2. Reduktion des CO₂-Gaswechsels:

Als Reaktion auf Wassermangel schließen Pflanzen die Stomata, um ihren Wasserverlust durch Transpiration möglichst gering zu halten (James et al., 2002; in Tester & Davenport, 2003). Dies führt gleichzeitig zu einer Reduktion der CO₂-Aufnahme in die Blätter und somit zu einer verminderten Nettoassimilation (Kreeb, 1996; Huchzermeyer & Koyro, 2005). Letztere kann eine erhöhte Gefahr von oxidativem Streß bewirken (Lovelock & Ball, 2002).

3. Ionentoxizität:

Ein Überschuß an Na^+ - und Cl^- -Ionen im Protoplasma bewirkt Natrium- und Chloridtoxizität, die verursacht wird durch ionenspezifische Wirkungen auf Membraneigenschaften und Proteine (Kreeb, 1996; Schulze et al., 2002) und/oder durch eine Akkumulation von NaCl in der Zellwand und nachfolgende Deydrierung (Oertli, 1968; Flowers & Yeo, 1986; Flowers et al., 1991).

4. Ionenungleichgewicht:

Ein Überschuß an Na^+ und Cl^- kann zu einem Ionenungleichgewicht und somit zu Mangelerscheinungen führen, da Ionen mit ähnlich hydratisierten Radien um Bindungsstellen von Transportproteinen an der Plasmamembran und damit um die Aufnahme in die Pflanze konkurrieren (Khan et al., 2000a, b; Koyro, 2000a; Ullrich, 2002; Wyn Jones & Gorham, 2002; Tester & Davenport, 2003; Hu & Schmidhalter, 2005; Liu et al., 2006).

Zur Veranschaulichung der Mechanismen, mit deren Hilfe Halophyten die oben genannten Probleme bewältigen, werden in der Literatur häufig zwei Hauptstrategien gegenübergestellt, nämlich Salzausschluß (Exkluder) und Salzanreicherung (Inkluder) (Marschner, 1995; Koyro & Huchzermeyer, 2003). Exkluder vermindern durch Salzausschluß Ionentoxizität und Ionenungleichgewicht, sind dafür aber in besonderer Weise einem Wasserdefizit ausgesetzt. Zu den salzanreichernden Pflanzen gehören v.a. dicotyle Halophyten, darunter laut Literatur auch *Aster tripolium* (Shennan et al., 1987b; Matsumura et al., 1998b; Ueda et al., 2003). Sie vermindern das Problem des Wassermangels durch die Akkumulation größerer Mengen von Salz in Sproß und Blättern und sind deshalb besonders geeignet, die Bodensalinität zu reduzieren. NaCl dient hier der osmotischen Adaptation und macht den überwiegenden Teil des osmotischen Potentials aus (Flowers & Yeo, 1986; Glenn et al., 1999; Tester & Davenport, 2003). Inkluder sind vermehrt dem Problem von Ionentoxizität und Ionenungleichgewicht ausgesetzt. Dies beheben sie u.a. durch verschiedene Prozesse, die in Verbindung mit einem erhöhten Ionentransport stehen, z.B. durch die selektive Aufnahme essentieller Nährelemente über Rhizodermis, Rindenparenchym oder Endodermis (Marschner, 1995; Tester & Davenport, 2003), durch Kompartimentierung des Salzes in den Vakuolen, durch Vermeidung zu hoher NaCl-Konzentrationen in metabolisch besonders aktiven Geweben (Wyn Jones et al., 1977; Hasegawa et al., 2000; Binzel & Ratajczak, 2002; Wyn Jones & Gorham, 2002; Tester & Davenport, 2003) oder durch Retranslokation des Salzes über das Phloem (Larcher, 2001; Tester & Davenport, 2003). Ein osmotisches Gleichgewicht zwischen den Zellkompartimenten wird ermöglicht durch die energieaufwendige Synthese von kompatiblen Substanzen, die im Cy-

toplasma angereichert werden (Wyn Jones et al., 1977; Marschner, 1995; Rhodes et al., 2002; Huchzermeyer & Koyro, 2005), wie z.B. von Prolin bei *Aster tripolium* (Goas et al., 1982; Huiskes, 1996b; Matsumura et al., 1998b).

Die Strandaster ist laut Literatur verglichen mit anderen Inkludern mäßig salztolerant (Wachstumsoptimum je nach Studie zwischen 0 und 100 mM NaCl; Shennan et al., 1987a; Huiskes et al., 1991; Huiskes, 1996a; Matsumura et al., 1998a). Es ist bekannt, daß das Wasserpotential von *A. tripolium* mit zunehmender Salinität abnimmt (Shennan et al., 1987b; Huiskes, 1996b; Matsumura et al., 1998a; Ueda et al., 2003). Hohe Natrium-Konzentrationen induzieren eine Zunahme des stomatären Widerstandes über eine Inaktivierung der Kalium-Einstromkanäle der Schließzellen (Perera et al., 1994, 1995, 1997; Robinson et al., 1997; Véry et al., 1998; Kerstiens et al., 2002), was die Wassernutzungseffizienz trotz sinkender Assimilationsrate verbessert (Lorenzen et al., 1990; Huiskes, 1996a, b; Ueda et al., 2003). Hieraus lassen sich folgende Vermutungen ableiten: Die Pflanze kann bei Salinität eine positive Wasserbilanz aufrechterhalten; andererseits könnte die Abnahme der stomatären Leitfähigkeit eine Ursache für die reduzierte Assimilationsrate darstellen und auf diese Weise indirekt oxidativen Streß hervorrufen. Dies ist insofern naheliegend, als die Strandaster zu den C₃-Pflanzen gehört, die besonders stark von Photorespiration und oxidativem Streß betroffen sind. Hinsichtlich des Mineralstoffhaushalts ist bekannt, daß *A. tripolium* keine morphologischen Merkmale wie Salzdrüsen, Blasenhaare oder besonders stark ausgebildete Sukkulenz besitzt, um eine übermäßige Salzkonzentration im Gewebe zu verhindern (Perera et al., 1994). Dies erreicht sie durch NaCl-Retranslokation in alte Blätter, die abgeworfen werden (Larcher, 2001). Es gibt vereinzelte Hinweise auf ein salzbedingtes Ionenungleichgewicht; im Gegensatz zu Shennan et al. (1987b), Matsumura et al. (1998a) und Ueda et al. (2003) fanden Bogemans et al. (1995) und Huiskes (1996a) einen Rückgang essentieller Nährelemente wie Kalium, Kalzium oder Magnesium in den Blättern. Über die oben genannten Mechanismen des Ionentransports ist bei *A. tripolium* sehr wenig bekannt. Es gibt lediglich Hinweise auf salzbedingte Veränderungen der Membraneigenschaften (höherer Sulfolipidanteil; Ramani et al., 2004) und auf eine erhöhte P-ATPase-Aktivität (Huchzermeyer et al., 2004).

Die vorliegende Studie soll die Adaptationsmechanismen von *Aster tripolium* an NaCl-Salinität untersuchen und ermitteln, welche der wachstumseinschränkenden Faktoren (osmotische Effekte, Reduktion des CO₂-Gaswechsels, Ionentoxizität, Ionenungleichgewicht) die Salztoleranz dieses Halophyten begrenzen. Dabei werden alle drei Ebenen - Gesamtpflanze, Gewebe, zellulär/molekularbiologisch - betrachtet, auf denen Pflanzen auf NaCl-Salinität reagieren (Epstein, 1980). Zunächst werden ökophysiologische Parameter aus den Bereichen

Wasserhaushalt, Gaswechsel und Mineralstoffhaushalt sowie damit einhergehende anatomisch-morphologische Merkmale erfaßt. Das Pflanzenwachstum, welches durch die vier genannten Faktoren beeinflusst wird, dient als zentraler Parameter, um die Salztoleranzgrenze zu definieren. Aufbauend auf diesen Basisdaten werden folgende weiterführende Untersuchungen durchgeführt: Da bei *Aster tripolium* auffällige morphologisch-adaptive Merkmale fehlen (s.o.), sollen feinere Strukturen bis hin zur Ultrastruktur studiert werden. Angesichts der salzbedingten Photosynthese-Reduktion sind Veränderungen an den Chloroplasten zu vermuten (Stärkeablagerungen, oxidative Schädigung der Thylakoidmembranen), wie bereits für andere Pflanzenarten beschrieben (Rahman et al., 2002; Mitsuya et al., 2003a; Fidalgo et al., 2004; Paramanova et al., 2004). Auch könnte es z.B. Auswirkungen geben auf die Zellwand- und Cuticulastruktur (Schutz vor Transpiration und zu starker Strahlung) oder die Ausbildung von Transferzellen (zur Ionen-Retranslokation) (Koyro, 2002; Boughanmi et al., 2003). Außerdem lassen die Reaktionen von *Aster tripolium* auf NaCl-Salinität (z.B. Assimilationsrückgang und möglicherweise Belastung durch oxidativen Streß, Notwendigkeit eines vermehrten Ionen-transportes) vermuten, daß die Genexpression salzbedingt verändert wird. Davon betroffen sein könnten z.B. Gene, welche Photosyntheseenzyme, antioxidative Enzyme oder Ionen-transportproteine codieren. Umgekehrt lassen sich über qualitative und quantitative Änderungen der Genexpression Rückschlüsse auf die Bedeutung halophytischer Abwehr- bzw. Adaptationsmechanismen ziehen. Daher erscheint es sinnvoll, auch das Proteom - das Muster der exprimierten Proteine - zu untersuchen. Aufbauend auf den Ergebnissen der Proteomanalyse ergänzen Aktivitätsbestimmungen von Enzymen, deren Expression salzbedingt hochreguliert wurde, das Bild von den biochemischen Grundlagen der Salztoleranz. Gerade hinsichtlich der molekularbiologischen Regulation der Salztoleranz können Halophyten wertvolle Modelle darstellen, um Salztoleranzmechanismen zu verstehen (Liska et al., 2004). Da sie natürlicherweise auf salinen Standorten gedeihen, eignen sie sich dazu besser als beispielsweise die klassische, aber glykophytische Modellpflanze *Arabidopsis thaliana*. So weisen z.B. Gene, die nur bei Halophyten, nicht aber bei Glykophyten exprimiert werden, auf spezifisch halophytische Eigenschaften hin, die für das Überleben auf salinen Standorten von großer Bedeutung sind. Mit diesem Wissen könnte auch die Erhöhung der Salztoleranz konventioneller Nutzpflanzen mehr Erfolg bringen als bisher. *A. tripolium* ist eine Pflanze mit kleinem Genom und geringem Sekundärstoffwechsel, die keine speziellen strukturellen Adaptationen an Salinität aufweist und den C₃-Stoffwechsel besitzt, welcher auf salinen Standorten - verglichen mit dem C₄-Stoffwechsel - einen Nachteil darstellt. Dennoch ist die Strandaster salztolerant. Dies macht sie als eine mögliche halophytische Modellpflanze interessant, die zum Vergleich mit

konventionellen C₃-Nutzpflanzen herangezogen werden kann. Die vorliegende Studie könnte einen ersten Grundstein für die Entwicklung von *A. tripolium* zur C₃-Modellpflanze legen.

Bei Pflanzen dieses Stoffwechseltyps spielt unter salinen Bedingungen die Regulation des Gaswechsels eine besonders große Rolle, da sie weniger wasserökonomisch sind als C₄-Pflanzen und ein Salzbedingtes Schließen der Stomata die CO₂-Aufnahme stärker begrenzt. Die Regulation des Gaswechsels wiederum wird u.a. vom CO₂-Konzentrationsgradienten zwischen der Außenluft und den Interzellularen des Blattes beeinflusst. Aufgrund der Auswirkungen von CO₂ auf Gaswechsel und Wasserhaushalt von C₃-Pflanzen (s.u.) liegt es nahe, daß eine Erhöhung der atmosphärischen CO₂-Konzentration die Salztoleranz von Halophyten mit C₃-Stoffwechsel - also auch diejenige von *A. tripolium* - positiv beeinflussen kann. Dies ist insofern von großer Bedeutung, als die Konzentration des klimarelevanten Spurengases CO₂ in der Atmosphäre aufgrund anthropogener CO₂-Emissionen seit Beginn der Industrialisierung um 31% von ca. 280 ppm auf ca. 370 ppm zugenommen hat und laut verschiedener Modelle bis zum Jahr 2100 auf 490 bis 1260 ppm ansteigen wird (IPCC, 2001).

Erhöhte CO₂-Konzentration führt bei C₃-Pflanzen zu einem steigenden CO₂/O₂-Partialdruck-Verhältnis im Blattinnern, zu einer reduzierten Photorespiration und in der Regel zu einer erhöhten Netto-Assimilationsrate (Urban, 2003; Kirschbaum, 2004; Long et al., 2004; Hikosaka et al., 2005; Ignatova et al., 2005). Dadurch wird das Risiko von oxidativem Streß verringert. Außerdem findet man sehr häufig eine Reduktion der stomatären Leitwerte (Hsiao & Jackson, 1999; Li et al., 2003; Marchi et al., 2004; Rogers et al., 2004), was zusammen mit der höheren Assimilationsrate auch eine gesteigerte Wassernutzungseffizienz der Photosynthese bewirkt (Amthor, 1999; Morgan et al., 2001; Urban, 2003). Daher sind insbesondere C₃-Pflanzen unter erhöhter CO₂-Konzentration eher in der Lage, trockene und saline Standorte zu besiedeln (Ball & Munns, 1992; Rozema, 1993; Drake et al., 1997; Fangmeier & Jäger, 2001; Wullschlegel et al., 2002; Urban, 2003). Auch im Fall von *A. tripolium* gibt es in der Literatur Hinweise darauf, daß erhöhtes CO₂ den Wasserhaushalt verbessert (Erhöhung des Wasserpotentials); allerdings machen die Autoren unterschiedliche Angaben über die daraus resultierende Wachstumsreaktion dieser Pflanze (Lenssen & Rozema, 1990; Rozema et al., 1990; Lenssen et al., 1995). Ein CO₂-bedingter verbesserter Wasserhaushalt wird jedoch nur dann das Pflanzenwachstum erhöhen, wenn genügend Rubisco bzw. Stickstoff zur Verfügung steht. Da der N-Haushalt unter salinen Bedingungen oft durch eine Hemmung der Nitrataufnahme (Arshi et al., 2002; Hu & Schmidhalter, 2005) stark beansprucht ist und erhöhte CO₂-Konzentrationen ebenfalls meistens eine N-Abnahme bewirken (Idso & Idso, 2001; Pal et al., 2003; Tingey et al., 2003; Long et al., 2004; Oksanen et al., 2005), könnte erhöhtes CO₂ in

dieser Hinsicht einen Nachteil für Pflanzen auf Salzstandorten darstellen. Andererseits sinkt der N-Bedarf im Zuge einer steigenden Stickstoffnutzungseffizienz CO₂-bedingt an (Fangmeier & Jäger, 2001), was die Salztoleranz von Halophyten erhöhen könnte.

Faßt man die obige Betrachtung zusammen, ergibt sich daraus folgende Hypothese: Wenn der Problembereich Wasserhaushalt/Gaswechsel/oxidativer Streß die Biomasseproduktion von *Aster tripolium* auf salinen Standorten begrenzt und für die Pflanze genügend Stickstoff verfügbar ist, wird dieser Halophyt von einer Zukunft mit steigendem atmosphärischen CO₂-Gehalt profitieren. Das wäre im Hinblick auf seine dauerhafte Nutzung von großer Bedeutung. Eine erfolgreiche nachhaltige Kultivierung der Strandaster würde sich andererseits dazu eignen, den negativen Auswirkungen des globalen Klimawandels, der eine Folge des steigenden atmosphärischen CO₂-Gehalts und des daraus resultierenden Treibhauseffekts darstellt (für genauere Informationen s. IPCC, 2001; Max-Planck-Institut für Meteorologie, 2005), entgegenzuwirken. Da Pflanzen CO₂ aus der Luft fixieren und als organisches Material speichern, bieten alle größeren Pflanzenpopulationen ein erhebliches Kohlenstoff-Bindungspotential (IPCC, 2001; Arnalds, 2004). Die Schaffung von Kohlenstoffsinken durch neu angelegte größere Pflanzenpopulationen mindert daher den Treibhauseffekt (Güth, 2001; Lieth & Mochtchenko, 2002). Da Salzmarschen als besonders geeignet gelten, um CO₂ über längere Zeit zu binden (Cacador et al., 2002), stellen neu geschaffene Halophytenbestände wirksame C-Senken dar. Das UN-Umweltprogramm (UNEP) hat bereits 1993 vorgeschlagen, Halophyten zu nutzen, um CO₂ langfristig zu sequestrieren und so den Treibhauseffekt zu mindern (UNEP, 1993).

Die eben dargestellten Zusammenhänge verdeutlichen, daß der Themenkomplex „Interaktion Salinität-CO₂“ äußerst zukunftsrelevant ist, zumal der globale Klimawandel das Ausmaß von Bodenversalzung und Desertifikation in ariden Klimazonen zunehmend vergrößert (West et al., 1994; Feddema, 1999; Yeo, 1999; IPCC, 2001; Oba et al., 2001; De Wrachien et al., 2002; Zhao & Zeng, 2002; van Ittersum et al., 2003; Oki & Kanae, 2006). Da bisher nur wenige Untersuchungen zu diesem Thema vorliegen, besteht ein hoher Bedarf an weiteren Studien, insbesondere an speziellen physiologischen, molekularbiologischen oder ultrastrukturellen Untersuchungen. Diese Arbeit soll die Hypothese, daß *Aster tripolium* von steigenden atmosphärischen CO₂-Konzentrationen profitieren wird, überprüfen und damit gleichzeitig die bestehende Wissenslücke verkleinern. Dazu wird anhand der auf S. 6 erläuterten Vorgehensweise (Erfassung von ökophysiologischen Parametern sowie darauf aufbauende Untersuchungen der Ultrastruktur und des Proteoms) der Einfluß von NaCl-Salinität auf *Aster tripoli-*

um unter natürlich atmosphärischer (ca. 380 ppm) und erhöhter CO₂-Konzentration (ca. 520 ppm) verglichen.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Pflanzenmaterial und Pflanzenkulturen

Die *Aster-tripolium*-Pflanzen wurden aus Samen herangezogen, die in der Wesermarsch in der Nähe von Cuxhaven gesammelt und anschließend über einige Generationen im Gewächshaus vermehrt worden waren.

Die Samen wurden zur Erhöhung der Keimungsrate im Kühlschrank aufbewahrt (Stratifikation) und anschließend im Gewächshaus auf feuchter Aussaaterde (LD 80 als Grundsubstanz; Mischung aus 45% Erde, 45% Vermiculit und 10% Sand) ausgelegt. Nach ca. zwei bis drei Wochen erfolgte eine Pikierung der Pflanzen und nach ca. zwei Monaten eine Überführung in die endgültigen Kulturbedingungen (s. Kap. 2.1.1 und 2.1.2).

2.1.1 Hydrokulturen in Open-Top-Kammern

Zur Untersuchung der Interaktion zwischen Salinität und erhöhter atmosphärischer CO₂-Konzentration wurden die Pflanzen in den Sommerhalbjahren 2001 bis 2003 in Open-Top-Kammern gezogen (Fangmeier et al., 1992; Abb. 1a, b), wo sie zu einem Teil mit natürlicher CO₂-Außenluftkonzentration (ca. 380 ppm), zum anderen Teil mit einer um ca. 140 ppm erhöhten CO₂-Konzentration versorgt wurden. Die genauen CO₂-Konzentrationen in den Kammern während der Kulturzeiträume 2002 und 2003 sind aus Abb. 2 zu entnehmen. Die beiden CO₂-Varianten sind im folgenden durch die tiefstehenden Kürzel „₃₈₀“ bzw. „₅₂₀“ gekennzeichnet. Zudem erfolgte eine Aufzeichnung der Klimadaten innerhalb der Open-Top-Kammern jeweils während des Kulturzeitraums. Abb. 3 zeigt beispielhaft die Daten der Jahre 2002 und 2003; das Jahr 2001 war hinsichtlich des Klimas vergleichbar mit dem Jahr 2003.

Die Pflanzen wurden in Hydrokulturen in einem Schnelltestsyste kultiviert (modifiziert nach Koyro & Huchzermeyer, 1999a). Sie standen in Plastiktöpfen, die je 6 Liter belüftete Nährlösung enthielten und mit einer Styroporscheibe abgedeckt waren (Abb. 1c). Die Nährlösung (modifiziert nach Epstein, 1972) hatte folgende Zusammensetzung:

1 mM KNO₃
 1 mM Ca(NO₃)₂
 1 mM NH₄H₂PO₄
 1 mM (NH₄)₂HPO₄
 1 mM MgSO₄
 0,02 mM Fe-EDTA
 0,025 mM H₃BO₃
 0,05 mM KCl
 0,002 mM MnSO₄
 0,002 mM ZnSO₄
 0,0005 mM CuSO₄
 0,0005 mM MoO₃

} Spurenelemente

(alles gelöst in Osmosewasser).

Nach einer Woche Adaptationszeit erfolgte die Aufsalzung der Pflanzen. Jeweils morgens und abends wurde der Nährlösung 50 mol m⁻³ NaCl in fester Form zugefügt, bis die erwünschten Salinitäten von 125, 250, 375 und 500 mol m⁻³ NaCl erreicht waren (dies entspricht 25%, 50%, 75% und 100% Meerwassersalinität). Außerdem wurden Kontrollpflanzen ohne NaCl-Zusatz kultiviert. Eine Woche nach Ende der Aufsalzung erfolgte ein einmaliger Nährlösungswechsel.

Zur Vereinfachung sind die verschiedenen Salinitätsstufen im folgenden nicht mit ihrer kompletten Einheit benannt, sondern als 125, 250, 375 bzw. 500 NaCl bezeichnet.

2.1.2 Gewächshaus-Hydrokulturen

In den Winterhalbjahren 2001/2002 und 2002/2003 wurden die Pflanzen im Gewächshaus unter definierten Klimabedingungen kultiviert. Diese Pflanzen dienten ausschließlich zur Untersuchung der Salztoleranz, v.a. zur Kontrolle der variablen Sommerkulturen.

Die Lichtphase im Gewächshaus betrug 16 Stunden bei einer Tagestemperatur von 25 °C (10 klx von 6 Uhr bis 22 Uhr, wobei sich die Lampen bei einer natürlichen Lichtstärke von über 10 klx ausschalteten). Während der Dunkelphase wurde die Temperatur auf 18 °C herabgesetzt. Die relative Luftfeuchte betrug 65±5%.

Die Kultivierung und Aufsalzung der Pflanzen erfolgte wie in den Open-Top-Kammern (s. Kap. 2.1.1).

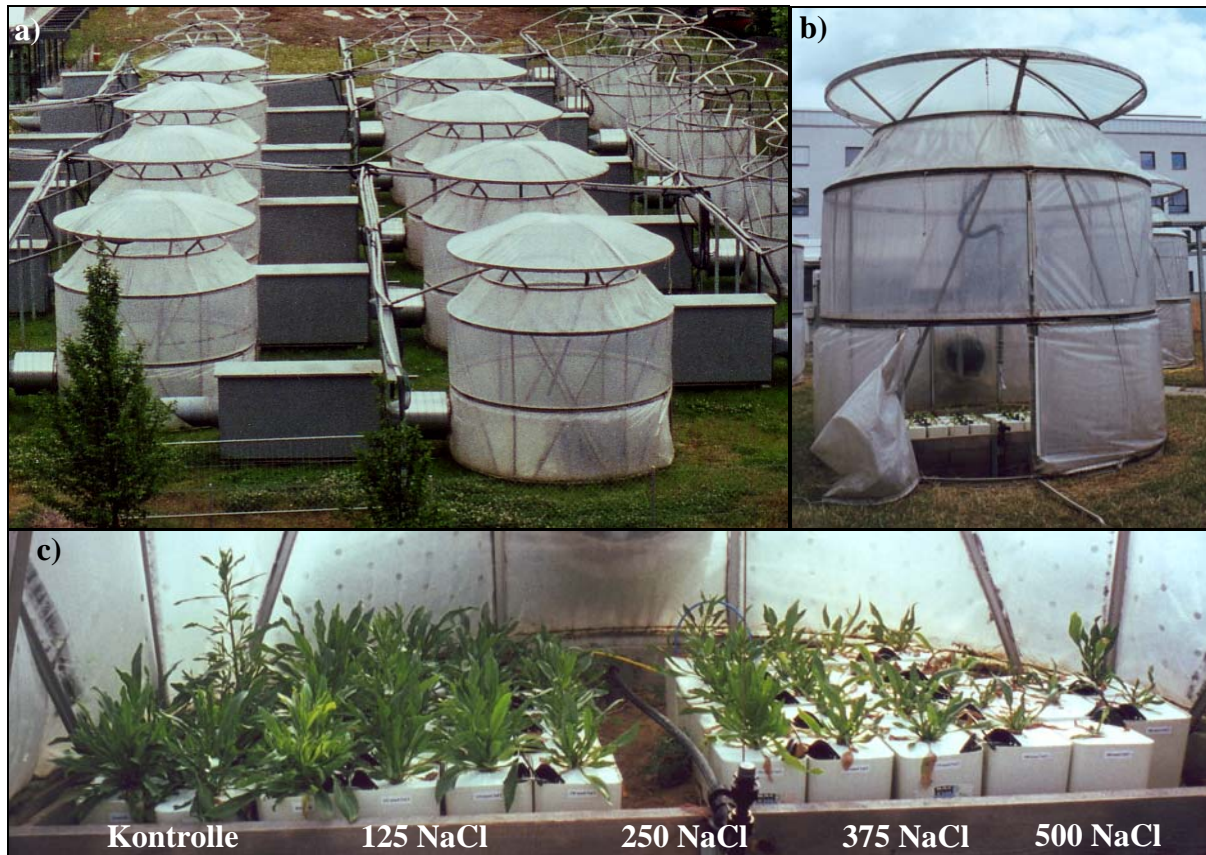


Abb. 1. Open-Top-Kammern und Schnelltestsystem der Sommerkulturen. a) und b) Open-Top-Kammern des Instituts für Pflanzenökologie in Gießen; c) *Aster tripolium* im Schnelltestsystem. Die Salinität steigt von links nach rechts.

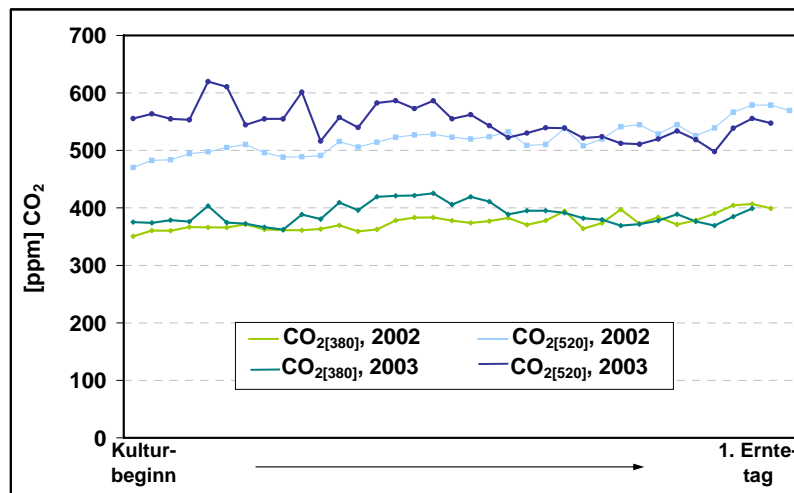


Abb. 2. CO₂-Konzentration innerhalb der Open-Top-Kammern während des Kulturzeitraumes für die Jahre 2002 und 2003.

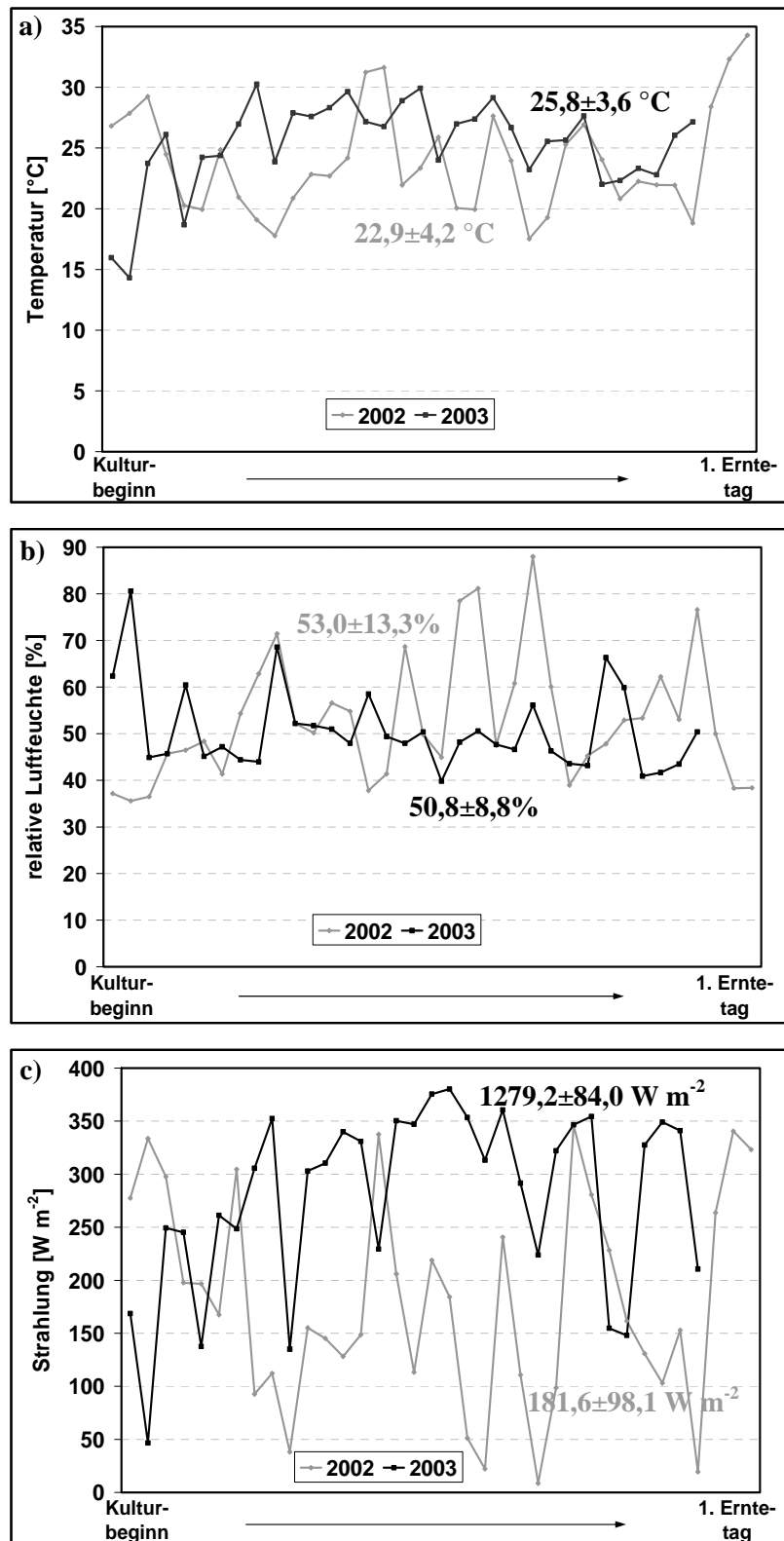


Abb. 3. Klima innerhalb der Open-Top-Kammern während des Kulturzeitraumes für die Jahre 2002 und 2003. a) Tagesmittelwerte der Temperatur; b) Tagesmittelwerte der relativen Luftfeuchte; c) Tagesmittelwerte der Strahlungsintensität. Die Zahlen geben die jeweiligen Mittelwerte über den gesamten Kulturzeitraum an.

2.2 Bestimmung der Keimungsrate bei verschiedenen Salinitäten

Je 100 Samen wurden im Gewächshaus in Petrischalen auf Filterpapier ausgelegt und regelmäßig mit folgenden Lösungen befeuchtet:

- aqua bidest,
- aqua bidest. + 125 mol m⁻³ NaCl,
- aqua bidest. + 250 mol m⁻³ NaCl,
- aqua bidest. + 375 mol m⁻³ NaCl,
- aqua bidest. + 500 mol m⁻³ NaCl.

Alle 1-2 Tage wurde die Anzahl der gekeimten Samen bestimmt.

2.3 Ernte der Pflanzen und Bestimmung der Wachstumsparameter

Nach Erreichen des „steady state“ ca. acht Wochen nach Kulturbeginn wurden die drei kräftigsten Pflanzen jeder Salinitätsstufe geerntet. Nach dem Abspülen und Abtrocknen der Wurzeln mit aqua bidest. wurden das Frischgewicht von adulten und juvenilen Blättern, von Sproß, Haupt- und Nebenwurzeln sowie die Anzahl und die Fläche von adulten und juvenilen Blattspreiten ermittelt. Für die Bestimmung von Trocken- und Aschegewicht, Chlorophyll, osmotischem Potential, Anionen, C-, N- und S-Gehalt, löslichem Gesamtprotein, Kohlenhydraten und Aminosäuren wurden von adulten und juvenilen Blattspreiten (aus dem Bereich der Interkostalfelder), von adulten und juvenilen Blattstielen sowie von Haupt- und Nebenwurzeln Proben entnommen und eingefroren.

Die Bestimmung des prozentualen Trocken- und Aschegewichtsanteils und des Wassergehalts erfolgte nach Steubing und Fangmeier (1992). Außerdem wurden die organische Matrix (OM = prozentualer Anteil organischer Substanz am Frischgewicht; s. Daoud et al., 2003) und die „leaf mass to area ratio“ (LMA = Verhältnis Blattgewicht/Blattoberfläche; s. Koyro, 2000a) berechnet.

2.4 Bestimmung des Blattwasserpotentials

Nach Erreichen des „steady state“ ca. acht Wochen nach Kulturbeginn wurde das Blattwasserpotential junger, voll entwickelter Blätter mit einem „Wescor HR 33T dew point microvoltmeter“ (WESCOR Inc., USA) nach der Taupunktmethode bestimmt.

2.5 Gaswechsellmessungen

Die Gaswechsellmessungen erfolgten mit einem Porometer („6200 portable photosynthesis system“, LI-COR Inc., Lincoln, NE, USA; von Willert et al., 1995) nach Erreichen des „steady state“ ca. acht Wochen nach Kulturbeginn. Die Messungen wurden an jungen, voll entwickelten Blättern unter den jeweils herrschenden Außenbedingungen durchgeführt. Es wurden Lichtsättigungskurven bei einer photosynthetisch aktiven Strahlung von 0 bis 2000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ aufgenommen. Das Meßgerät ermittelte bei Lichtsättigung (ca. 1500 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$) die Photosyntheserate, den stomatären Widerstand, die Transpiration und die CO_2 -Konzentration in der Außenluft und im Blattinnern (Formeln zur Berechnung s. LI-COR, 1990). Die Berechnung des Lichtkompensationspunktes (I_c), der Lichtstärke, bei der die Photosynthese gesättigt war (I_s), und der photosynthetischen Effizienz („apparent quantum yield of photosynthetic CO_2 assimilation“, Φ_c , = mol assimiliertes CO_2 /mol absorbierte Quanten) erfolgte mit Hilfe folgender Exponentialfunktion (Schulte et al., 2003):

$$f(x)=a-\exp[b*(-x)]*c$$

wobei:

$$f(x)=\text{Nettophotosyntheserate } [\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{s}^{-1}];$$

$$x=\text{photosynthetisch aktive Strahlung } [\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}];$$

$$a=\text{maximale Nettophotosyntheserate bei Lichtsättigung (A max) in } [\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{s}^{-1}];$$

b und c=Parameter der obigen Exponentialfunktion.

I_c , I_s und Φ_c lassen sich folgendermaßen berechnen:

$$I_c=\ln(a/c)*(-1/b) [\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}]$$

$$I_s=\ln(0,1*a/c)*(-1/b) [\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}]$$

$$\Phi_c=\exp[b*(-I_c)]*cb = \text{Steigung der Lichtsättigungskurve am } I_c [\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ Quanten}]$$

2.6 Bestimmung des Chlorophyll- und Carotinoidgehalts

Die Bestimmung des Chlorophyll-a-, Chlorophyll-b- und Carotinoidgehalts erfolgte mittels Aceton-Extraktion nach Lichtenthaler & Wellburn (1983) mit folgender Modifikation: Nach beiden Extrahierungsschritten wurden die Überstände über eine Vakuumpumpe in ein großes Reagenzglas filtriert und auf 20 ml aufgefüllt. Ein DU-6 Spectrophotometer (Beckman Coulter Inc., Fullerton, USA) diente zur Messung der Extinktion bei 663, 646 und 470 nm.

Die Pigmentgehalte wurden nach Lichtenthaler (1987) berechnet.

2.7 Bestimmung des osmotischen Potentials

Aus den Proben wurde zunächst nach der von Koyro (2000a) beschriebenen Methode Preßsaft gewonnen, der zur Messung diente. Die Bestimmung des osmotischen Potentials erfolgte mit einem Kryoskop (Osmomat 030, Gonotec GmbH, Berlin).

2.8 Bestimmung des Gehalts an Alkali- und Erdalkalimetallen

Zur quantitativen Bestimmung von Natrium, Kalium, Kalzium und Magnesium mittels Flammen-Atomabsorptionsspektrometrie wurde dasjenige Pflanzenmaterial verwendet, das zuvor der Bestimmung von Trocken- und Aschegewicht gedient hatte. Die Proben wurden mit 32%iger Salpetersäure aufgeschlossen (Steubing & Fangmeier, 1992) und mit einem Flammen-Atomabsorptionsspektrometer (PE 2100, Perkin Elmer, Wellesley, USA) analysiert.

Aus den Natrium- und Kaliumgehalten ließ sich die K/Na-Selektivität nach folgender Formel berechnen:

$$\text{K/Na-Selektivität} = \frac{K_{\text{innen}}}{K_{\text{außen}}} * \frac{Na_{\text{innen}}}{Na_{\text{außen}}} \quad (\text{Pitman, 1965})$$

2.9 Bestimmung des Anionengehalts

Der Gehalt an Chlorid, Nitrat, Phosphat und Sulfat wurde per Anionenchromatographie (Ionenaustausch-Chromatographie) bestimmt. Als Proben dienten eingefrorene Preßsäfte (s. Kap. 2.7), die mit Reinstwasser verdünnt und durch 0,45 µm Cellulose-Acetate-Filter (OE 67, Schleicher & Schuell, Dassel) filtriert wurden.

Die Analyse erfolgte in einem „690 Ion Chromatograph“ (mit 697 IC Pump und 698 Autosampler, Metrohm, Herisau, Schweiz) über eine Anionensäule PRP X-100 (Hamilton Company, Reno, USA) nach der Methode von Högy (2002). Davon abweichend diente ein p-Hydroxybenzoesäure/Benzoat-Eluent (2,5 mM p-Hydroxybenzoesäure + 1 mM Natriumbenzoat + 2,5% Methanol, pH 8,5) als mobile Phase, dessen Flußrate 2,5 ml pro Minute betrug. Die Chromatogramme wurden mit Hilfe des Computerprogramms „Star Chromatography Workstation“, Version 5.5 (Varian Inc., USA) ausgewertet.

2.10 Bestimmung des Kohlenstoff-, Stickstoff- und Schwefelgehalts

Das getrocknete und zu feinem Pulver gemahlene Pflanzenmaterial wurde in Tiegel eingewogen und mit einer äquivalenten Menge Wolframoxid überschichtet, um den Verbrennungsprozeß zu erleichtern. Die Analyse der Proben erfolgte im Elementaranalysator vario MAX CNS (Elementaranalysesysteme GmbH, Hanau) nach dem Prinzip der katalytischen Rohrverbrennung.

2.11 Bestimmung des Kohlenhydratgehalts

2.11.1 Gehalt an löslichen Gesamt-Kohlenhydraten

Es wurde eine Gesamtzuckerbestimmung (Phenol-Schwefelsäure-Methode nach Kleber et al., 1987 und Wegmann, 1998) durchgeführt, wobei zur Analyse verdünnter Preßsaft (s. Kap. 2.7) diente. Die Messung der Extinktion bei 490 nm erfolgte in einem DU-6 Spectrophotometer (Beckman Coulter Inc., Fullerton, USA).

2.11.2 Gehalt an Saccharose, Glucose und Fructose

Zunächst wurden die Kohlenhydrate nach der von Günther (2004) beschriebenen Methode in aqua bidest. extrahiert. Anschließend erfolgte die Bestimmung des Gehalts an Saccharose, Glucose und Fructose mit Hilfe der Test-Kombination Saccharose/D-Glucose/D-Fructose (Boehringer Mannheim GmbH) nach Günther (2004; modifiziert nach Boehringer Mannheim GmbH, o.J.; s. auch Wagener et al., 1983). Zur Messung der Absorption bei 340 nm diente ein EIA-Reader („Benchmark Microplate Recorder“, BIO-RAD Laboratories Inc., Hercules, USA). Die Berechnung der Kohlenhydrat-Konzentrationen erfolgte laut Anleitung der Boehringer Mannheim GmbH (o.J.).

2.12 Bestimmung des Aminosäuregehalts

Zunächst erfolgte die Extraktion der Aminosäuren mit Sulfosalicylsäure und die Derivatisierung mit 9-Fluorenylmethyl-chloroformiat (FMOC-Cl; Einarsson et al., 1983) nach Högy (2002). Je 10 µl Probe wurden mittels Umkehrphasen-HPLC im Varian Pro Star-Chromatograph (mit Varian Autosampler 410, Varian Inc, Palo Alto, USA und Fluoreszenzdetektor RF 535, Shimadzu Europa GmbH, Duisburg) über eine Amino TagTM Aminosäure-Analysensäule (TSK gel ODS-80 TM; 4,6 mm x 15 cm, Varian Inc., Palo Alto, USA) analysiert, vor die eine Varian-Vorsäule (PR-8, 10 x 3,2 mm) geschaltet war. Die mobile Phase bestand aus folgenden Komponenten:

Lösung A: 0,015 M Natriumcitrat + 0,01 M Tetramethylammonium-Chlorid + 40 ml Methanol, pH 3,84;

Lösung B: Acetonitril.

Bei einer Flußrate von 1,4 ml pro Minute wurde folgender Gradient erzeugt:

Zeit [min:sec]	% Lösung A	% Lösung B
0:00	75,0	25,0
1:00	75,0	25,0
5:46	72,0	28,0
9:41	69	31
15:00	55	45
18:30	50	50
22:00	45	55
27:00	30	70
30:00	5	95
32:00	5	95
33:00	75	25
35:00	75	25

Die Chromatogramme wurden mit Hilfe des Computerprogramms „Star Chromatography Workstation“, Version 5.5 (Varian Inc., Palo Alto, USA) ausgewertet.

2.13 Bestimmung des Gehalts an löslichem Gesamt-Protein

Zur Bestimmung des löslichen Gesamtproteins nach Bradford (1976) diente unverdünnter Preßsaft (s. Kap. 2.7). Die Extinktion bei 595 nm wurde in einem DU-6 Spectrophotometer (Beckman Coulter Inc., Fullerton, USA) gemessen.

2.14 Analyse des Proteoms

2.14.1 2D-Gelelektrophorese

Die 2D-Gelelektrophorese war anfänglich mit erheblichen Schwierigkeiten verbunden, da sie zu keinen auswertbaren Ergebnissen führte [nur wenige „spots“ (Proteinflecken), zu starker Hintergrund, ausgeprägte horizontale Streifen auf dem Gel]. Daher wurde die Methode in vielen kleinen Schritten modifiziert, bis sie zufriedenstellende Ergebnisse lieferte. Es wird im folgenden diejenige Methode beschrieben, die schließlich am erfolgreichsten war und nach der die zur Auswertung herangezogenen Gele hergestellt wurden.

Von beiden CO₂-Ansätzen wurden jeweils das zweite und dritte voll entwickelte Blatt von drei Kontrollpflanzen und von drei Pflanzen des 375 NaCl-Ansatzes untersucht. Das Blattmaterial wurde in flüssigem Stickstoff schockgefroren, und alle Blätter eines Ansatzes wurden zusammen unter flüssigem Stickstoff zu Pulver gemörsert.

Aus dem gefrorenen Blattmaterial wurden die Proteine nach der von Zörb et al. (2004) beschriebenen Methode mittels DTT-TCA-Aceton extrahiert, mit folgenden Modifikationen: Der Lysepuffer enthielt zusätzlich 50mM DTT, und nach dem ersten Aufnehmen des Proteinpellets in Puffer A erfolgte eine erneute Proteinfällung für eine Stunde, um die Proteinkonzentration in der Probe zu erhöhen. Der Proteingehalt der Extrakte wurde nach Bradford (1976) bestimmt.

Anschließend erfolgte die isoelektrische Fokussierung (IEF) innerhalb eines immobilisierten pH-Gradienten (Bjellqvist et al., 1982; Görg et al., 1985; Görg et al., 1988) mit Hilfe von „Immobiline DryStrip-Gelen“ (= „IPG strips“; pH-Bereich 4-7, Länge 7 cm; Amersham Biosciences AB, Uppsala, Schweden). Auf diese wurden je 200 µl Proteinlösung aufgetragen, die 150 µg Protein enthielt. Die „IPG strips“ wurden in einem „IPGphor Isoelectric Focusing System“ (Amersham Biosciences AB, Uppsala, Schweden) unter folgenden Bedingungen rehydriert und fokussiert:

- allgemeine Parameter: 20°C; 50 µA pro „IPG strip“
- 10 Stunden Rehydrierung
- 2 Stunden 100 V
- 1 Stunde 500 V
- 1 Stunde 1000 V
- 5 Stunden 8000 V.

} IEF

Nach der Equilibrierung der „IPG strips“ (nach Berkelman & Stenstedt, 2002) erfolgte die SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese (SDS-PAGE). Die verwendeten Gele enthielten 12,5% (v/v) Acrylamid (Zusammensetzung nach Berkelman & Stenstedt, 2002; s. auch Laemmli, 1970; Laufpuffer ebenfalls nach Berkelman & Stenstedt, 2002). Als Marker diente ein „RainbowTM RPN 756 Marker“ (Amersham Biosciences AB, Uppsala, Schweden). Die Gele liefen bei 4 °C zunächst 15 Minuten lang bei einer Stromstärke von 15 mA pro Gel und danach ca. 3,5 Stunden lang bei 45 mA pro Gel bei einer maximalen Spannung von 300 V. Anschließend wurden sie für eine Stunde in 50% Ethanol/10% Eisessig fixiert und über Nacht in Coomassie Brilliant Blue R 250 (0,05% in Fixierlösung) gefärbt (Neuhoff et al., 1985). Die Gele wurden bei 600 dpi eingescannt und mit Hilfe der Gelauswertesoftware Delta 2D, Version 3.1.2 (Decodon GmbH, Greifswald) ausgewertet. Es wurden jeweils zwei Gele der Sommerkulturen 2002 und 2003 zu je einem „Mittelwert-Gel“ vereinigt. Die Software quantifizierte die „spots“ über ihre Flächenintegrale und Grautöne und ermittelte ihre relativen Volumenprozent. Mit Hilfe der Swiss-Prot/TrEMBL-Datenbank (<http://www.expasy.org>) wurde versucht, Proteine, die in beiden Kulturen unter Salzstreß neu oder deutlich verstärkt exprimiert wurden, über ihren isoelektrischen Punkt und ihr Molekulargewicht zu identifizieren.

2.14.2 „Matrix assisted Laser Desorption Ionisation Time-of-flight Mass Spectrometry” (MALDI-TOF-MS)

Einige der „spots“, deren Expression in beiden Kulturen unter Salzstreß deutlich verstärkt war, wurden mittels MALDI-TOF-MS analysiert. Die Aufarbeitung und die Analyse der Proben wurden dankenswerterweise von Herrn Steffen Pahlich (Biochemisches Institut der Universität Zürich) durchgeführt. Aus Kostengründen konnten so leider nur sieben Proteine untersucht werden.

Die aus den Gelen ausgeschnittenen „spots“ wurden nach Wilm et al. (1996) und Shevchenko et al. (1996) aufgearbeitet, mit folgenden Modifikationen: Nach dem Entfärben und Dehydrieren der Gelstücke erfolgte direkt die Reduktion für 30 Minuten. Daraufhin wurden die Proben erneut mit Acetonitril dehydriert und anschließend eine Stunde lang carbamidomethyliert, worauf drei weitere Dehydrierungsschritte folgten. Nach der Trocknung im Vakuum wurden die Gelstücke mit 5 µl Verdauungslösung (0,5 mM Tris-HCl, pH 8,0 + 20 µg Trypsin/ml) und nach 5 Minuten mit 10-15 µl 0,5 mM Tris-HCl (pH 8,0) versetzt. Die Verdauung fand über Nacht bei Raumtemperatur statt. Die Lösung der verdauten Peptide wurde im Verhältnis 1:3 mit Matrixlösung (gesättigte Lösung von α -Cyano-hydroxy-Zimtsäure in 40% ACN + 0,1% Trifluor-Essigsäure) gemischt und auf das MALDI-Target aufgetragen.

Die Analyse der Proben erfolgte in einem Biflex MALDI-TOF-Massenspektrometer (Bruker Daltonik GmbH, Bremen) im Reflektor-Modus, wobei ein gepulster Laser zur Ionenerzeugung verwendet wurde (Schrattenholz, 2001). Zur Identifizierung der Proteine dienten die Mascot-Datenbank (<http://www.matrixscience.com>) und die Swiss-Prot/TrEMBL-Datenbank (<http://www.expasy.org>).

2.15 Bestimmung der Aktivitäten antioxidativer Enzyme

2.15.1 Enzymextraktion

Zur Enzymbestimmung diente dasselbe Blattmaterial wie zur Gelelektrophorese (s. Kap. 2.14.1). Die Extraktion der Enzyme mit Kalium-Phosphat-Puffer erfolgte nach Rios-Gonzalez et al. (2002) mit folgenden Modifikationen: Der Extraktionspuffer hatte den pH-Wert 7,4 und enthielt zusätzlich 10 mM Ascorbat als Reduktionsmittel. Über Nacht wurde der Extrakt bei 4

°C gegen 700 ml Extraktionspuffer dialysiert (Dialyseschlauch: Spectrapore MWCO 6-8 kDa).

2.15.2 Bestimmung der Superoxid-Dismutase (SOD)-Aktivität

Die Bestimmung der SOD-Aktivität basierte auf der Methode von Beauchamp & Fridovich (1971; s. auch Flohé & Ötting, 1984; Keetmann, 2000) und erfolgte nach Rios-Gonzalez et al. (2002) mit folgenden Modifikationen: 1 ml des Reaktionsgemisches, welches 50 mM Kalium-Phosphat-Puffer (pH 7,8) enthielt, wurde in kleinen Glasschälchen mit 10 µl Enzymextrakt gemischt und auf einem Schüttler 25 Minuten lang mit einer UV-Lampe bestrahlt (Wellenlänge 350 nm). Die Menge an reduziertem Nitroblau-Tetrazoliumchlorid (NBT) wurde spektralphotometrisch bei 560 nm bestimmt (DU-6 Spectrophotometer, Beckman Coulter Inc., Fullerton, USA).

2.15.3 Bestimmung der Ascorbat-Peroxidase (APO)-Aktivität

Die Bestimmung der APO-Aktivität erfolgte spektralphotometrisch über die Ascorbat-Abnahme nach Nakano & Asada (1981), wobei 900 µl Reaktionsgemisch mit 34 µl Enzymextrakt versetzt wurden. Die Extinktion bei 290 nm wurde 4 Minuten lang alle 15 Sekunden gemessen (DU-6 Spectrophotometer, Beckman Coulter Inc., Fullerton, USA).

2.15.4 Bestimmung der Glutathion-S-Transferase (GST)-Aktivität

Die GST-Aktivität wurde spektralphotometrisch über die Zunahme von S-2,4-Dinitrophenyl-Glutathion bestimmt (Habig & Jakoby, 1981; Jakoby, 1985). Die von Reade & Cobb (1999) beschriebene Methode wurde folgendermaßen verändert: 910 µl des Reaktionsgemisches, welches 50 mM Kalium-Phosphat-Puffer enthielt, wurden mit 40 µl Enzymextrakt versetzt. Die Extinktion bei 340 nm wurde 5 Minuten lang alle 30 Sekunden gemessen (DU-6 Spectrophotometer, Beckman Coulter Inc., Fullerton, USA).

2.16 Bestimmung der Aktivitäten von P-ATPase, V-ATPase und F-ATPase

Zur Messung der ATPase-Aktivitäten diente dasselbe Blattmaterial wie zur Gelelektrophorese (s. Kap. 2.14.1). Die Bestimmung erfolgte nach Ramani (2004) anhand der Menge an freigesetztem radioaktiv markierten Phosphat, wobei die verwendeten Lösungen folgendermaßen modifiziert wurden:

Extraktionsmedium:

25 mM HEPES/KOH, pH 7,4,
400 mM Sorbitol,
2 mM MgCl₂.

Inkubationsmedium:

25 mM HEPES/KOH, pH 7,4
400 mM Sorbitol,
100 mM KCl,
2 mM MgCl₂,
0,5 mM ATP,
0,5 mM [γ ³²P_i] ATP.

Zur Analyse der Proben diente ein Szintillationszähler (LS 1801, Beckman Instruments, Fullerton, USA).

2.17 Strukturanalytik

2.17.1 Lichtmikroskopie und Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)

Zur licht- und transmissionselektronenmikroskopischen Untersuchung dienten Querschnitte durch Blätter mittleren Alters im Bereich der Leitbündel dritter Ordnung. Da es v.a. bei den besalzenen Ansätzen sehr schwierig war, Objekte guter Qualität – d.h. turgeszente, nicht plasmolysierte Zellen und gute Kontrastierbarkeit - zu erhalten, wurde die Probenpräparation in verschiedener Hinsicht von Standardprotokollen (s. Plattner & Zingsheim, 1987; Bozzola & Russell, 1999; Ruzin, 1999) abweichend modifiziert.

Zur Erstfixierung wurden Blattstückchen in folgende Lösungen überführt, wobei die Proben der Hochsalzvarianten vorher für ca. 30 Sekunden in aqua bidest. geschwenkt wurden, um das Eindringen des Fixiermediums in die Probe zu erleichtern:

Kontrollen: 2,5% Glutardialdehyd in 0,05 M PIPES-Puffer, pH 6,8.

Besalzene Proben: 2% Glutardialdehyd + 1,5% Formaldehyd in 0,05 M PIPES-Puffer (verändert nach Karnovski, 1965). Dabei wurde das Fixiermedium den Proben durch NaCl-Zugabe osmotisch angeglichen, um osmotisch bedingte Ablösungen des Plasmalemmas zu verhindern.

Nach einer Vakuuminfiltration (1 Minute bei 0,053 MPa, 1 Minute bei 0,026 MPa, 5 Minuten bei 0,053 MPa Unterdruck) wurden die Blattstückchen 4 Stunden lang bei Raumtemperatur fixiert. Anschließend wurde das Fixiermedium stufenweise durch 0,05 M PIPES-Puffer ersetzt, indem dreimal je ein Drittel des Glasinhaltes und zweimal fast der gesamte Glasinhalt ausgetauscht wurde. Auf diese Weise wurde das osmotische Potential des Außenmediums schonend erniedrigt, was osmotisch bedingte Ablösungen des Plasmalemmas verhinderte. Es erfolgte eine Nachfixierung mit 1%igem Osmiumtetroxid in 0,05 M PIPES-Puffer für 3,5 Stunden bei Raumtemperatur. Nach mehrmaligem Waschen mit aqua bidest. wurden die Proben stufenlos über eine Acetonreihe (10%, 25%, 50%, 75%, 95%, 100% über Molekularsieb) entwässert (Sitte, 1962). Die Objekte wurden über Nacht mit Spurr-Harz ERL-4206 (Spurr, 1969) infiltriert und anschließend in dieses eingebettet.

Von den so präparierten Proben wurden an einem Ultramikrotom (Ultracut E, Reichert-Jung) zunächst Semidünnschnitte angefertigt, die mit 0,5% Toluidinblau + 0,5% Borax gefärbt wurden. Die lichtmikroskopische Untersuchung dieser Schnitte erfolgte an einem Olympus CHB- und einem Olympus BH-2-Mikroskop. Die horizontale Ausdehnung der Blattquerschnitte und der einzelnen Gewebe, die Zellausdehnung sowie der Interzellularenanteil pro Querschnittsfläche wurden mit Hilfe der Auswertesoftware analySIS, Version 3.2 (Soft Imaging Systems) ermittelt.

Von denjenigen Objekten, die für die TEM- Untersuchung geeignet erschienen, wurden Ultradünnschnitte hergestellt. Die Kontrastierung der Schnitte erfolgte teilweise mit Uranylacetat und Bleicitrat nach Reynolds (1963) und teilweise mit 1%igem wäßrigen Kaliumpermanganat und Bleicitrat (Bray & Wagenaar, 1978). Die Proben wurden im TEM LEO 912 AB OMEGA (Zeiss/Leica) untersucht.

2.17.2 Rasterelektronenmikroskopie

Im Rasterelektronenmikroskop wurde die Unterseite von Blättern mittleren Alters im Bereich der Interkostalfelder neben der Mittelrippe untersucht. Zunächst wurden Blattstückchen für einige Wochen in FAA (45% Ethanol + 5% Eisessig + 1,85% Formaldehyd) fixiert. Anschließend wurden die Proben über eine Ethanolreihe (je 15 Minuten 50%, 70%, 80%, 90%, 96%, 100% und 100% über Molekularsieb) entwässert, in einem „Critical Point Dryer“ (Balzers Union, Balzers, Liechtenstein) getrocknet und anschließend in einer Metallbeschichtungskammer (Leitz) zwei Minuten lang bei einer Stromstärke von 0,6 mA besputtert. Die Objekte wurden im Philips Rasterelektronenmikroskop XL 20 untersucht.

2.18 Statistik

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit Hilfe der Software SPSS (Version 11). Die Daten wurden durch den Kolmogorov-Smirnov-Test auf Normalverteilung getestet und, falls diese nicht gegeben war, mittels Wurzel- oder Logarithmusbildung transformiert. Die normalverteilten Daten wurden mittels einfaktorieller Varianzanalyse oder - falls sich die einzelnen Variablen gegenseitig direkt beeinflussen – mittels mehrfaktorieller Varianzanalyse ausgewertet. Auf signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten (Signifikanzniveau $p \leq 0,05$) wurde getestet durch den Post-Hoc-Test nach Tukey (Unterschiede zwischen mehreren Salinitäten bei Varianzgleichheit zwischen den Stichproben), den Games-Howell-Post-Hoc-Test (Unterschiede zwischen mehreren Salinitäten, keine Varianzgleichheit zwischen gleich großen Stichproben), den Dunnett-T3-Post-Hoc-Test (Unterschiede zwischen mehreren Salinitäten, keine Varianzgleichheit zwischen unterschiedlich großen Stichproben) oder den t-Test nach Student (Unterschiede zwischen nur zwei Salinitäten oder zwischen den CO₂-Ansätzen).

3 **ERGEBNISSE**

In den Kapiteln 3.1 bis 3.11 werden, wenn nicht anders erwähnt, die Mittelwerte der drei Sommerkulturen in Diagramm- oder Tabellenform dargestellt. Die Winterkulturen wurden durch NaCl-Salinität ähnlich beeinflusst; ihre Daten sind in Anhang 2 aufgeführt.

3.1 Wachstumsparemeter

3.1.1 Keimung, äußeres Erscheinungsbild und Biomasseproduktion

Die Keimungsrate wurde bereits bei 125 NaCl sehr deutlich reduziert; Hochsalz inhibierte die Keimung vollständig (s. Anhang 1, Abb. A1.1).

Zum Zeitpunkt des Kulturbeginns handelte es sich bei *A. tripolium* um Pflanzen des Rosettentyps (Abb. 4). Im Fall der Kontrollen₃₈₀ setzte in der späten vegetativen Phase (8-10 Wochen nach Kulturbeginn) ein kräftiges Längenwachstum des Sprosses ein (s. Anhang 1, Abb. A1.2a, Pfeil), das die reproduktive Phase einleitete. NaCl-Salinität hatte deutliche Auswirkungen auf das Erscheinungsbild der Strandastern. Mit steigender Salinität nahm die Größe der Pflanzen deutlich ab, und sie bildeten weniger, kleinere, aber dickere und dunkler grün gefärbte Blätter. Besonders bei hohen Salinitäten starben ältere Blätter zunehmend ab (s. Anhang 1, Abb. A1.2b, Pfeile). Bis auf einige Pflanzen des 125 NaCl-Ansatzes behielten die Salzvarianten bis zum Ende der Kultur den Habitus der Rosettenpflanzen.

Größe und Habitus von *A. tripolium* wurden durch erhöhtes CO₂ nicht sichtbar beeinflusst.

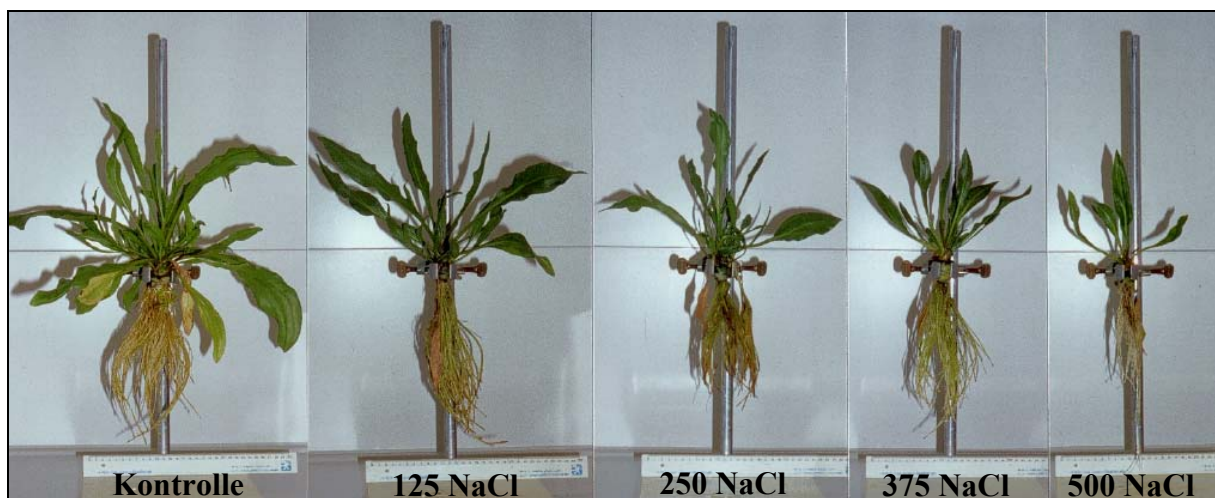


Abb. 4. Habitus der geernteten *Aster-tripolium*-Pflanzen bei verschiedenen Salinitäten unter [CO₂]₃₈₀.

NaCl-Salinität reduzierte die Biomasse signifikant (Abb. 5a). Unter natürlich atmosphärischer CO₂-Konzentration nahm das Gesamt-Frischgewicht pro Pflanze mit steigender Salzkonzentration kontinuierlich ab und erreichte bei Meerwassersalinität nur noch ein Viertel des Gewichtes der Kontrollen. Der P₅₀-Wert, d.h. die Salzkonzentration, bei der das Wachstum um die Hälfte reduziert wird (Salztoleranzgrenze), lag bei ca. 250 NaCl.

Zwischen den beiden CO₂-Ansätzen gab es keine signifikanten Unterschiede im Frischgewicht; allerdings tendierten die Pflanzen einiger Salzvarianten unter erhöhter CO₂-Konzentration zu einer geringfügig höheren Biomasse.

Wie das Frischgewicht wurde auch das Trockengewicht der Pflanzen bei [CO₂]₃₈₀ mit zunehmender Salinität signifikant reduziert (Abb. 5b), nahm aber mit einem Rückgang um gut zwei Drittel bei Meerwassersalinität nicht ganz so stark ab wie das Frischgewicht.

Unter erhöhtem CO₂ war das Trockengewicht etwas höher als bei [CO₂]₃₈₀, v.a. bei den Kontrollen und bei niedriger Salinität. Bei 125 NaCl war dieser Unterschied signifikant.

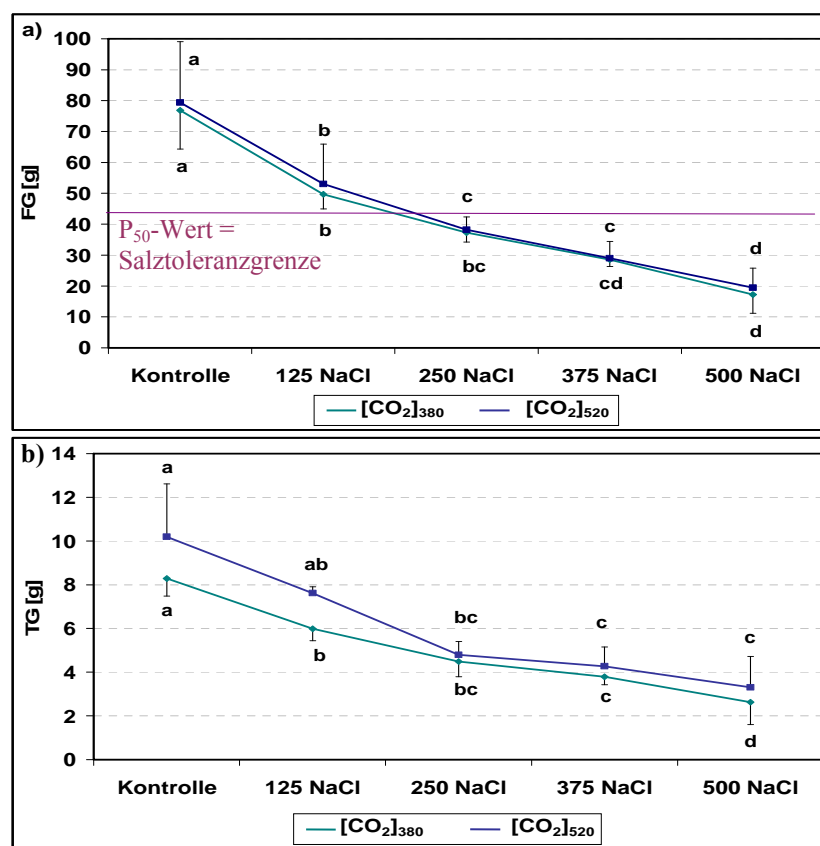


Abb. 5. Gesamt-Biomasse pro Pflanze bei verschiedenen Salinitäten unter [CO₂]₃₈₀ und [CO₂]₅₂₀. a) Frischgewicht; b) Trockengewicht. Diese Abb. beinhaltet die Mittelwerte von nur zwei Sommerkulturen (2002 und 2003). Die dritte Kultur (Sommer 2001) zeigte dieselben Tendenzen (s. Anhang 1, Abb. A1.3). Die Pflanzen waren aber deutlich größer, da sie zu einem etwas späteren Zeitpunkt auf Hydrokultur gesetzt wurden. Die Daten dieser Kultur wurden in Abb. 5 nicht mit einbezogen, um die Vergleichbarkeit der Daten zu gewährleisten.

Unterschiedliche Buchstaben bedeuten signifikante Unterschiede ($p \leq 0,05$) zwischen den Salinitäten.

* bedeutet signifikanter Unterschied ($p \leq 0,05$) zwischen den sich entsprechenden CO₂-Ansätzen.

Die Anzahl der Blätter pro Pflanze, die Fläche pro Blatt und die Frischgewichte der einzelnen Pflanzenorgane wurden bei $[\text{CO}_2]_{380}$ durch Na-Cl-Salinität signifikant reduziert, wohingegen erhöhtes CO_2 keine signifikanten Auswirkungen auf die genannten Parameter hatte (s. Anhang 1, Tab. A1.1, A1.2, Abb. A1.4, A1.5).

Auf die Darstellung der Sproß/Wurzel-Verhältnisse wird hier aufgrund hoher Standardabweichungen und daher nur bedingter Aussagekraft der Ergebnisse verzichtet. Diese sind in Anhang 1 (Tab. A1.1) zu finden.

3.1.2 Überlebensrate

Ca. 11 Wochen nach Kulturbeginn war die Überlebensrate der Pflanzen unter natürlich atmosphärischer CO_2 -Konzentration bei 375 und 500 NaCl signifikant geringer als bei den Kontrollen (Abb. 6).

Im Gegensatz zur Biomasseproduktion hatte erhöhtes CO_2 auf die Überlebensrate einen deutlich positiven Effekt: Bei $[\text{CO}_2]_{520}$ ging diese erst bei 500 NaCl signifikant zurück. Gegenüber $[\text{CO}_2]_{380}$ konnte sie bei 375 NaCl signifikant auf über 90% (statt 60%) und bei 500 NaCl tendenziell auf ca. 50% (statt 20%) gesteigert werden.

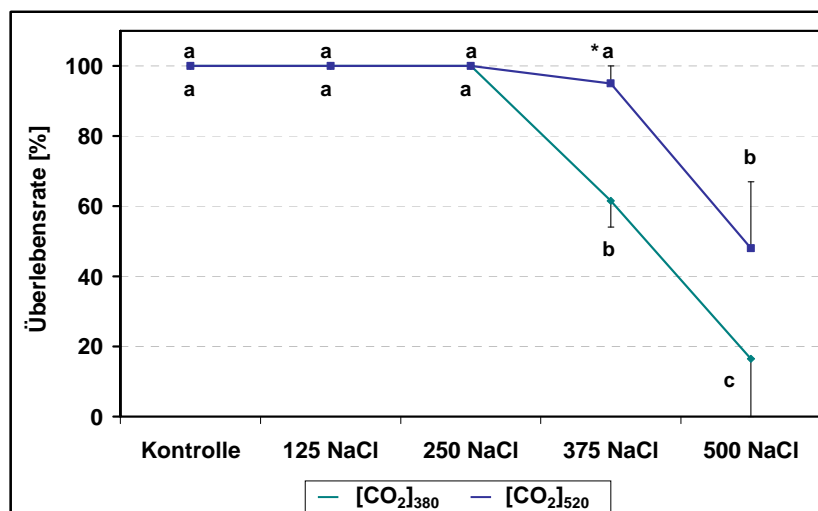


Abb. 6. Überlebensrate ca. 11 Wochen nach Kulturbeginn bei verschiedenen Salinitäten unter $[\text{CO}_2]_{380}$ und $[\text{CO}_2]_{520}$ (Mittel aus den Sommerkulturen 2001 und 2003). 2002 war keine objektive Auswertung der Überlebensrate möglich, da Pestizidrückstände in der Nährlösung die Werte verfälschten.

3.1.3 Andere Wachstumsparameter

NaCl-Salinität bewirkte in den Blättern und in den Nebenwurzeln der $[\text{CO}_2]_{380}$ -Varianten eine transiente Abnahme, in der Hauptwurzel jedoch einen signifikanten Anstieg der organischen Matrix (s. Anhang 1, Abb. A1.6a). Der prozentuale Aschegewichtsanteil nahm in allen Pflanzenorganen salzbedingt signifikant zu (s. Anhang 1, Abb. A1.7a). Erhöhte CO_2 -Konzentration bewirkte eine Zunahme der organischen Matrix und eine Reduktion des Aschegewichtsanteils, besonders in den Blattspreiten (s. Anhang 1, Abb. A1.6b, A1.7b).

Der Wassergehalt verhielt sich reziprok ähnlich wie die organische Matrix (s. Anhang 1, Abb. A1.8).

3.2 Wasserpotential

Bei natürlich atmosphärischen Bedingungen sank das Blattwasserpotential mit zunehmendem Salzgehalt kontinuierlich und signifikant von ca. -0,6 MPa bei den Kontrollen auf ca. -5 MPa bei Meerwassersalinität (Abb. 7a).

Erhöhtes CO_2 bewirkte bei den Kontrollen, bei niedriger und bei mittlerer Salinität keine Veränderung des Wasserpotentials, während dieses bei 375 NaCl signifikant höhere und bei 500 NaCl tendenziell höhere Werte annahm (Abb. 7b).

Bei allen Salz- und CO_2 -Varianten war das Wasserpotential der Blätter deutlich geringer als dasjenige des Außenmediums.

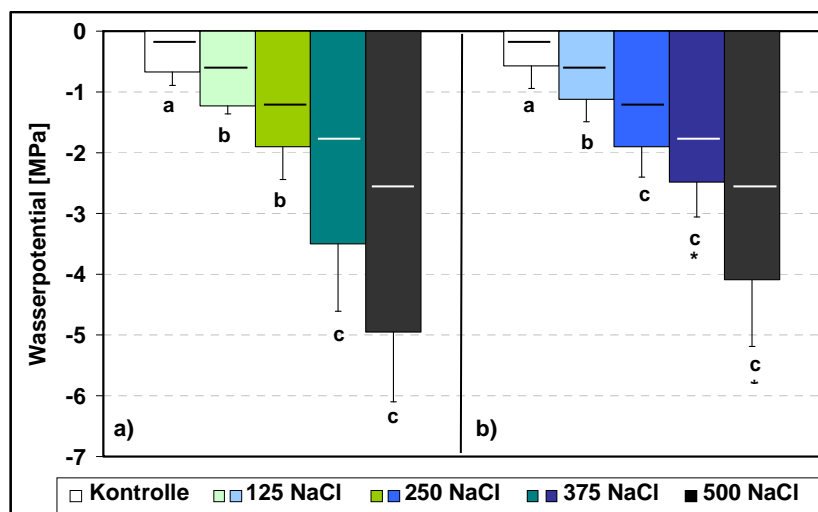


Abb. 7. Wasserpotential junger, voll entwickelter Blätter bei verschiedenen Salinitäten. a) $[\text{CO}_2]_{380}$; b) $[\text{CO}_2]_{520}$. Die Linien innerhalb der Säulen zeigen das Wasserpotential der Nährlösung an.

3.3 Gaswechsel

Der Gaswechsel wurde bei natürlich atmosphärischen Bedingungen durch NaCl-Salinität stark beeinflusst (Abb. 8, Tab. 1). Die maximale Nettoassimilationsrate (A_{max}) wurde signifikant reduziert und erreichte bei Meerwassersalinität nur noch ca. ein Drittel des Kontrollwertes. Die Photosynthese war außerdem bereits bei einer deutlich geringeren Lichtstärke gesättigt. Die blattinterne CO_2 -Konzentration (C_i) nahm signifikant ab und erreichte bei 500 NaCl einen für C_3 -Pflanzen extrem niedrigen Wert von unter 150 ppm. Es war eine signifikante Zunahme des stomatären Widerstandes (R_s) zu verzeichnen, was eine signifikante Reduktion der Transpiration (E) um ca. 50% bewirkte. Dies wird auch durch rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen bestätigt (Abb. 9): Sie zeigen, daß die Stomata bei den Kontrollen größtenteils weit geöffnet, bei Hochsalz jedoch zumeist geschlossen oder nur halb geöffnet waren. Gleichzeitig ging die Wassernutzungseffizienz der Photosynthese (water use efficiency, WUE) signifikant um ca. 30% zurück. Hochsalz bewirkte außerdem eine signifikante Zunahme der Dunkelatmung (DA) um fast das Dreifache und einen höheren Lichtkompensationspunkt (I_c). Die photosynthetische Effizienz (Φ_c) ging bei mittlerer Salinität etwas zurück, stieg bei Hochsalz jedoch wieder über den Ausgangswert hinaus an.

Erhöhtes CO_2 führte bei allen Salinitäten zu einer signifikant höheren Nettophotosyntheserate (Faktor 1,6 bis 2) als bei $[CO_2]_{380}$. Diese sättigte sich erst bei deutlich höheren Lichtintensitäten. Außerdem war die blattinterne CO_2 -Konzentration generell signifikant höher als unter natürlich atmosphärischer CO_2 -Konzentration. Der stomatäre Widerstand der Kontrollen₅₂₀ unterschied sich nicht von demjenigen der Kontrollen₃₈₀; dagegen war er bei mittlerer Salinität tendenziell und bei Hochsalz signifikant geringer als unter $[CO_2]_{380}$. Die Transpiration verhielt sich reziprok zum stomatären Widerstand: Während sie bei den Kontrollen unter erhöhtem CO_2 signifikant höher war als unter natürlich atmosphärischen Bedingungen, glichen sich die CO_2 -Varianten bei zunehmender Salinität einander an. Die Wassernutzungseffizienz konnte bei $[CO_2]_{520}$ aufgrund der höheren Photosyntheseleistung über alle Salinitäten hinweg mehr oder weniger konstant gehalten werden und war bei den besalzenen Pflanzen signifikant höher als bei $[CO_2]_{380}$. Erhöhtes CO_2 bewirkte außerdem einen signifikanten Anstieg der Dunkelatmung bei Salinität. Die Salzvarianten wiesen zudem einen deutlich höheren Lichtkompensationspunkt auf als unter natürlich atmosphärischer CO_2 -Konzentration. Die photosynthetische Effizienz unterschied sich nicht wesentlich von derjenigen bei $[CO_2]_{380}$.

Die Gaswechsellmessungen zeigen, daß eine erhöhte atmosphärische CO₂-Konzentration einen positiven Effekt auf die Photosyntheserate und die Wassernutzungseffizienz der Pflanzen hatte.

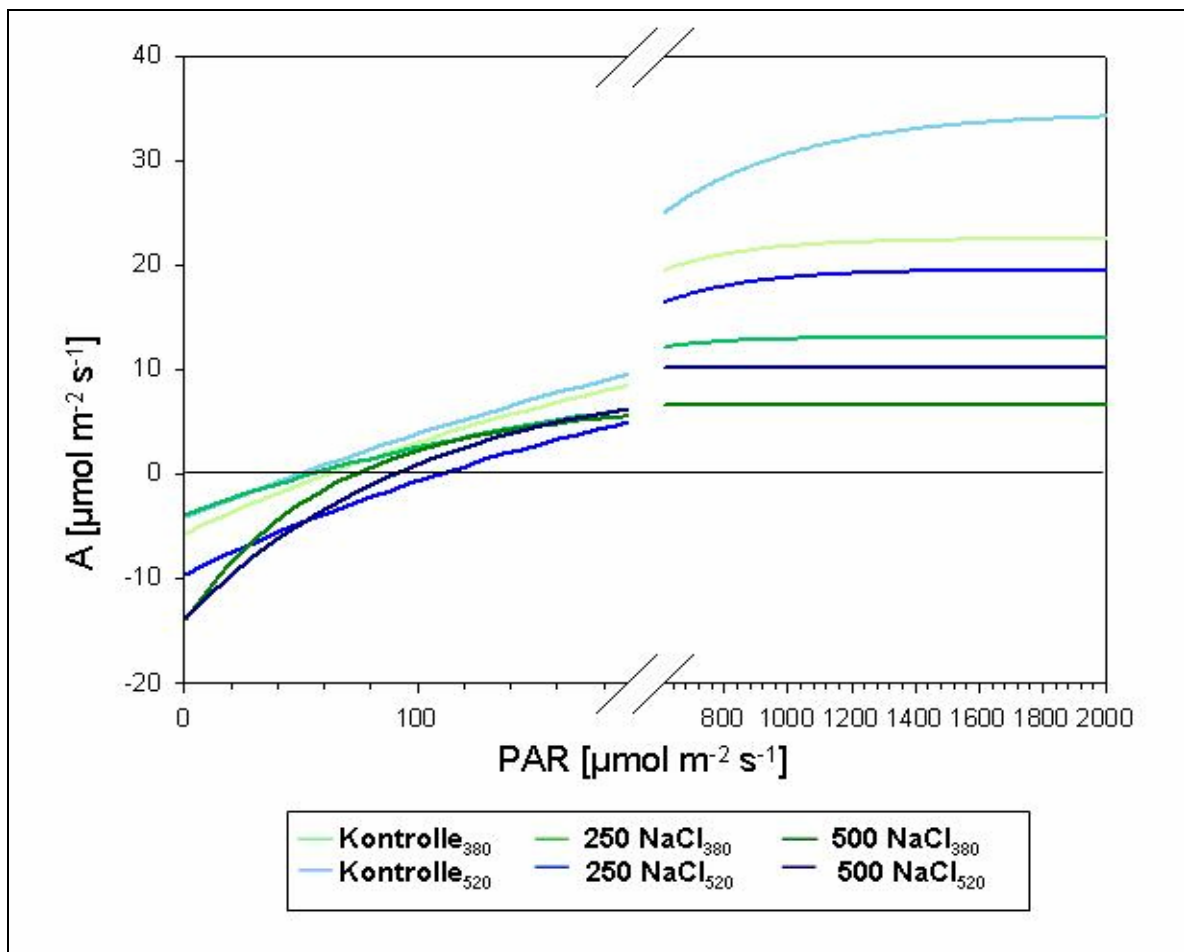


Abb. 8. Lichtsättigungskurven bei verschiedenen Salinitäten unter [CO₂]₃₈₀ und [CO₂]₅₂₀.
A = Nettophotosyntheserate; PAR = photosynthetisch aktive Strahlung.

Tab. 1. Gaswechselfparameter bei verschiedenen Salinitäten unter $[\text{CO}_2]_{380}$ und $[\text{CO}_2]_{520}$. a) Parameter bei Lichtsättigung; b) Parameter der Lichtsättigungskurve. A max. = Nettophotosyntheserate; E = Transpiration; R_s = Stomatärer Widerstand; WUE = Wassernutzungseffizienz der Photosynthese; C_i = Blattinterne CO_2 -Konzentration (alle bei Lichtsättigung); DA = Dunkelatmung; I_c = Lichtkompensationspunkt; I_s = Lichtstärke, bei der Lichtsättigung der Photosynthese eintritt; Φ_c = photosynthetische Effizienz. Für I_c , I_s und Φ_c wurden keine Standardabweichungen berechnet, da diese Parameter für jeden Ansatz einmalig mit Hilfe der in Kap. 2.5 erläuterten Exponentialfunktion ermittelt wurden, jeweils basierend auf allen Einzelmessungen.

a)	A max. [$\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$]	E [$\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$]	R_s [s cm^{-1}]	WUE [$\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{H}_2\text{O}$]	C_i [ppm]
Kontrolle ₃₈₀	21,55 <i>a</i> ±6,10	4,32 <i>a</i> ±0,87	1,65 <i>a</i> ±0,75	5,09 <i>a</i> ±1,55	172,9 <i>a</i> ±31,1
250 NaCl ₃₈₀	11,39 <i>b</i> ±5,96	2,84 <i>b</i> ±1,48	4,51 <i>b</i> ±2,15	4,27 <i>b</i> ±0,87	144,3 <i>b</i> ±48,5
500 NaCl ₃₈₀	7,57 <i>c</i> ±4,60	2,30 <i>b</i> ±1,57	9,69 <i>c</i> ±5,42	3,50 <i>c</i> ±0,43	132,0 <i>b</i> ±30,2
Kontrolle ₅₂₀	33,63 <i>a</i> ±6,25	6,11 <i>a</i> ±1,45	1,15 <i>a</i> ±0,72	5,79 <i>a</i> ±1,53	262,8 <i>a</i> ±33,2
250 NaCl ₅₂₀	20,79 <i>b</i> ±7,94	4,00 <i>b</i> ±1,91	3,08 <i>b</i> ±2,06	5,39 <i>a</i> ±1,06	231,9 <i>b</i> ±49,6
500 NaCl ₅₂₀	12,96 <i>c</i> ±4,78	2,52 <i>c</i> ±1,26	6,89 <i>c</i> ±4,9	5,62 <i>a</i> ±0,3	184,0 <i>c</i> ±52,6

b)	DA [$\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$]	I_c [$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$]	I_s [$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$]	Φ_c [$\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{Quanten}$]
Kontrolle ₃₈₀	-5,49 <i>a</i> ±1,43	61,09	683,41	0,083
250 NaCl ₃₈₀	-5,17 <i>a</i> ±0,95	54,99	544,90	0,061
500 NaCl ₃₈₀	-14,24 <i>b</i> ±3,06	72,75	219,41	0,102
Kontrolle ₅₂₀	-4,79 <i>a</i> ±1,06	48,81	1049,94	0,080
250 NaCl ₅₂₀	-12,28 <i>b</i> ±3,67	108,04	730,36	0,072
500 NaCl ₅₂₀	-18,78 <i>c</i> ±4,78	90,43	332,81	0,096

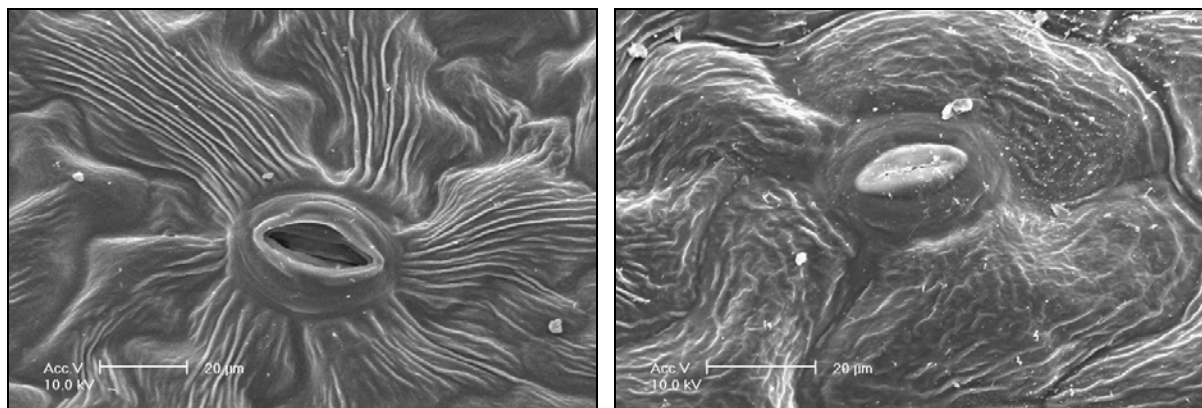


Abb. 9. Stomata in der oberen Epidermis (REM-Aufnahmen). a) Kontrolle; b) 375 NaCl. Sz = Schließzelle; Nz = Nebenzelle; Ez = Epidermiszelle; L = Laminarleiste; Ö = Öffnungsspalt.

3.4 Chlorophyll- und Carotinoidgehalt

Bezogen auf die Blattfläche enthielten die adulten Blätter der Kontrollen₃₈₀ tendenziell etwas mehr Chlorophyll a, Chlorophyll b und Carotinoide als die juvenilen Blätter, wobei das Chlorophyll-a/Chlorophyll-b-Verhältnis in den jungen Blättern tendenziell geringfügig höher war (Abb. 10a, c, e, g).

NaCl-Salinität bewirkte ähnliche Veränderungen aller drei Pigmente. In den adulten Blättern führte sie zu einer kontinuierlichen Abnahme der Pigmentgehalte. Signifikant war dies allerdings nur bei Chlorophyll b. In den jungen Blättern kam es zu einer transienten, tendenziellen Zunahme bei mittlerer Salinität und einem anschließenden Rückgang unter den Kontrollwert bei Hochsalz. Bei Chlorophyll a und Chlorophyll b war diese Reduktion signifikant. Das Chlorophyll-a/Chlorophyll-b-Verhältnis stieg in den adulten Blättern signifikant an, während in den juvenilen Blättern nur eine tendenzielle, transiente Zunahme zu verzeichnen war.

Erhöhtes CO₂ wirkte dem Trend der Pigmentabnahme bei Salinität teilweise entgegen (Abb. 10b, d, f, h): Adulte Blätter wiesen bei Hochsalz signifikant höhere Gehalte an Chlorophyll a, Chlorophyll b und an Carotinoiden auf als bei [CO₂]₃₈₀. Außerdem konnten auch in den jungen Blättern die Gehalte aller Pigmente bei NaCl-Salinität konstanter gehalten werden als unter natürlich atmosphärischen Bedingungen, wenn auch die Unterschiede zwischen den CO₂-Ansätzen nicht signifikant waren. Das Chlorophyll-a/Chlorophyll-b-Verhältnis wurde durch erhöhtes CO₂ nicht beeinflusst.

Bezogen auf das Frischgewicht sank der Gehalt an allen Pigmenten bei [CO₂]₃₈₀ mit zunehmender Salinität signifikant und viel deutlicher als beim Flächenbezug (s. Anhang 1, Abb. A1.9), was auf die steigende LMA zurückzuführen ist. Auf diese Ergebnisse soll nicht näher eingegangen werden, da für die Photosynthese und damit auch für den Pigmentgehalt v.a. die Lichteinstrahlung pro Fläche ausschlaggebend ist.

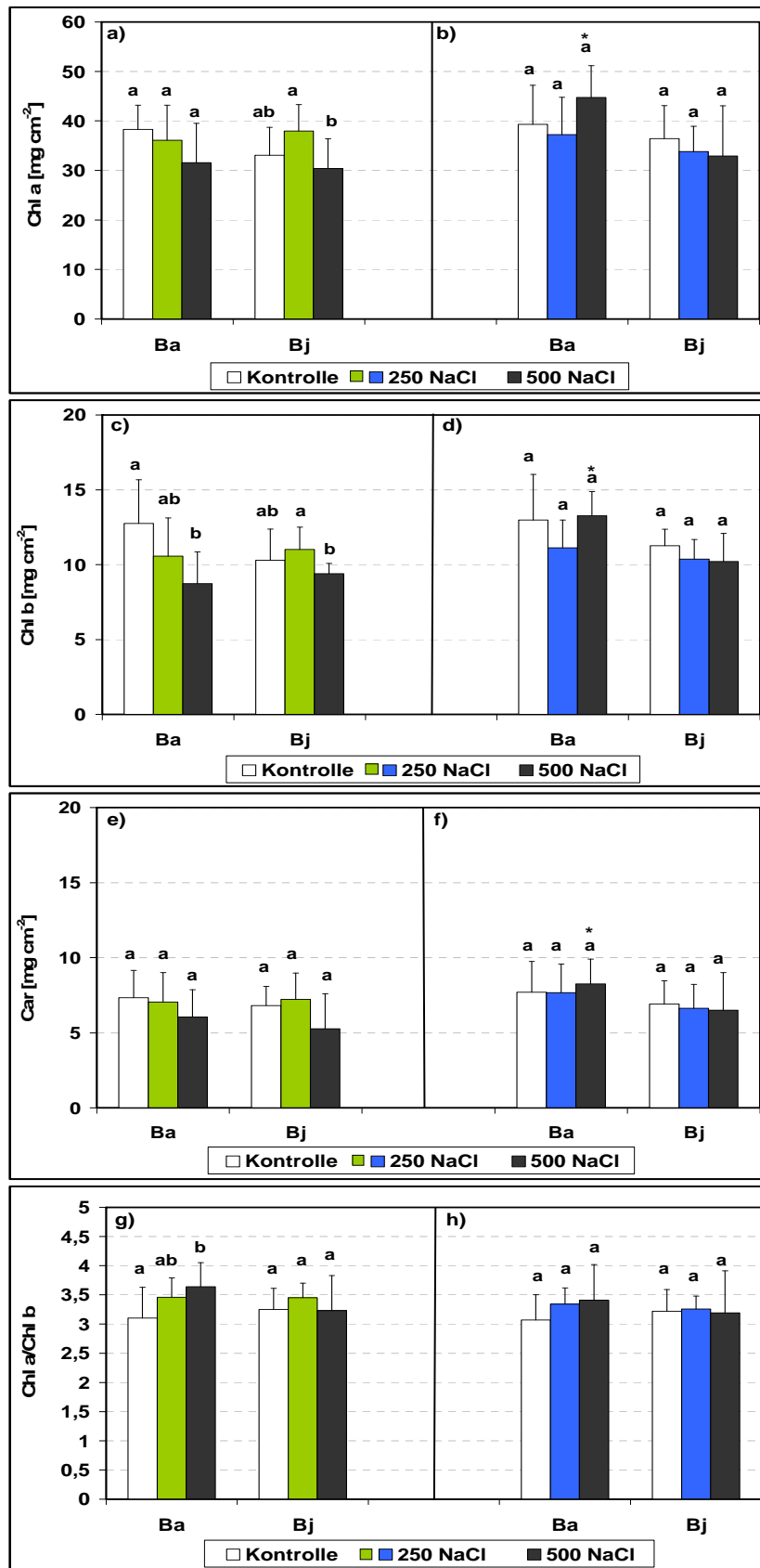


Abb. 10. Pigmentgehalte bei verschiedenen Salinitäten. a), b) Chlorophyll-a-Gehalt; c), d) Chlorophyll-b-Gehalt; e), f) Carotinoid-Gehalt; g), h) Chlorophyll a/Chlorophyll b-Verhältnis. a), c), e), g) [CO₂]₃₈₀; b), d), f), h) [CO₂]₅₂₀. Unterschiedliche Buchstaben bedeuten signifikante Unterschiede (p ≤ 0,05) zwischen den Salinitäten innerhalb eines Organs. * bedeutet signifikanter Unterschied (p ≤ 0,05) zwischen den sich entsprechenden CO₂-Ansätzen.

3.5 Osmotisches Potential

Das osmotische Potential der Kontrollen₃₈₀ nahm von den Nebenwurzeln (-0,9 MPa) über die Hauptwurzeln und Blattstiele bis hin zu den Blattspreiten (-1,2 MPa) tendenziell ab (Abb. 11a).

Mit zunehmender Salinität sank das osmotische Potential aller Organe signifikant und kontinuierlich bis auf unter -3 MPa. Die Unterschiede zwischen den beiden höchsten Salzstufen waren jedoch in der Regel nur geringfügig und tendenziell. Bei Hochsalz wiesen die Hauptwurzeln das niedrigste und die Blattspreiten das höchste osmotische Potential auf.

Erhöhtes CO₂ führte bei niedriger und mittlerer Salinität zu keinen nennenswerten Veränderungen des osmotischen Potentials (Abb. 11b). Dagegen war dieses bei 500 NaCl in den Blattspreiten und bei 375 NaCl in den Hauptwurzeln signifikant niedriger als unter [CO₂]₃₈₀. Dieselbe Tendenz zeigten auch die Hauptwurzeln bei 500 NaCl und die Nebenwurzeln bei den beiden höchsten Salzstufen.

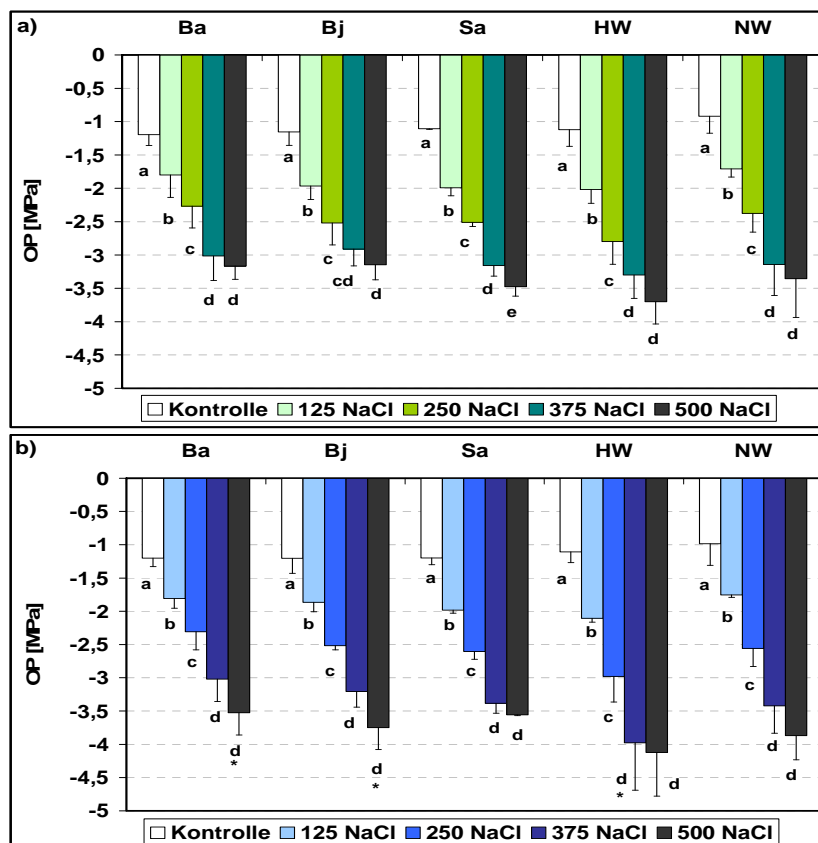


Abb. 11. Osmotisches Potential bei verschiedenen Salinitäten. a) [CO₂]₃₈₀; b) [CO₂]₅₂₀.

Subtrahiert man das osmotische Potential vom Wasserpotential, erhält man unter Vernachlässigung des Matrixpotentials annähernd das Turgorpotential (Ueda et al., 2003; Rodríguez et al., 2005). Hierfür ergaben sich folgende Werte (Tab. 2): Bei $[\text{CO}_2]_{380}$ war das Wasserpotential bis zu einer Salinität von 250 NaCl höher als das osmotische Potential, und die Differenz zwischen den beiden Werten blieb mehr oder weniger konstant. Bei höherer Salinität wies das Wasserpotential geringere Werte auf als das osmotische Potential; das Turgorpotential wurde zunehmend negativer.

Unter erhöhtem CO_2 war dieselbe Tendenz zu verzeichnen, allerdings blieb das Turgorpotential bis zur 375 NaCl-Stufe konstant und war auch bei Meerwassersalinität deutlich weniger negativ als unter natürlich atmosphärischer CO_2 -Konzentration.

Tab. 2. Differenz zwischen osmotischem Potential und Wasserpotential (näherungsweise = Turgorpotential) bei $[\text{CO}_2]_{380}$ und $[\text{CO}_2]_{520}$.

	$[\text{CO}_2]_{380}$	$[\text{CO}_2]_{520}$
Kontrolle	0,48	0,64
125 NaCl	0,73	0,74
250 NaCl	0,62	0,62
375 NaCl	-0,59	0,73
500 NaCl	-1,81	-0,34

3.6 Gehalt an Alkali- und Erdalkalimetallen

An dieser Stelle werden nur die Ergebnisse für natürlich atmosphärische CO_2 -Konzentration dargestellt, da eine Erhöhung der atmosphärischen CO_2 -Konzentration nur wenige signifikante Änderungen der Natrium-, Kalium-, Kalzium- und Magnesiumgehalte bewirkte, die keinem bestimmten Muster folgten. Die Daten für erhöhte CO_2 -Konzentration sind Anhang 1 (Abb. A1.10-A1.15) zu entnehmen.

Die Natriumkonzentration lag bei den Kontrollen₃₈₀ im Blattstiel mit nur 17 mmol/kg FG am niedrigsten, gefolgt von Nebenwurzeln, Hauptwurzeln, adulten und juvenilen Blattspreiten (107 mmol/kg FG) (Abb. 12).

Salinität führte zu einem signifikanten Anstieg des Na-Gehaltes auf das 5-8fache; im Blattstiel war der prozentuale Anstieg aufgrund der geringen Ausgangskonzentration deutlich höher. Der überwiegende Teil der Natriumakkumulation war bereits bei 375 NaCl erreicht. Bei Meerwassersalinität wies der Blattstiel mit ca. 600 mmol/kg FG die höchste Natriumkonzentration auf.

tration auf, gefolgt von den Blattspreiten, Nebenwurzeln und Hauptwurzeln (ca. 400 mmol/kg FG).

Der Kaliumgehalt nahm bei den Kontrollen₃₈₀ in den Pflanzenorganen wie folgt ab (Abb. 13): Blattstiel (140 mmol/kg FG) > Blattspreite ≥ Hauptwurzel ≥ Nebenwurzeln (60 mmol/kg FG). Bei moderater Salinität ging die Kaliumkonzentration in den Blattspreiten zunächst signifikant auf bis zu 30% zurück und stieg bei höherer Salinität tendenziell wieder etwas an. Im Blattstiel sank der Kaliumgehalt signifikant unter 10% des Kontrollwertes. In den Wurzeln blieb der Kaliumgehalt deutlich konstanter als in den anderen Organen, wenngleich es auch in den Hauptwurzeln zu einem signifikanten, transienten Rückgang kam.

Aus den oben geschilderten Ergebnissen ergab sich eine salzbedingte signifikante Reduktion des K/Na-Verhältnisses unter natürlich atmosphärischer CO₂-Konzentration (s. Anhang, Abb. A1.12a).

Die K/Na-Selektivität lag bei den Kontrollen₃₈₀ in allen Organen nahe 1 (Abb. 14). In den Nebenwurzeln stieg die K/Na-Selektivität bei NaCl-Salinität signifikant auf das 70fache und in den Blättern auf das 6fache an, während sie in der Hauptwurzel konstant gehalten wurde. Im Blattstiel dagegen erfolgte eine signifikante Selektivitätsabnahme auf 0,1.

Der Kalzium-Gehalt war bei den Kontrollen₃₈₀ in den jungen Blattspreiten mit 50 mmol/kg FG am höchsten und in den Wurzeln mit gut 30 mmol/kg FG am niedrigsten (Abb. 15).

Salinität führte in den Blattspreiten und in den Hauptwurzeln zu einer signifikanten und transienten Abnahme um 40% (Ba) bis 70% (Bj). Im Blattstiel und in den Nebenwurzeln ging die Kalzium-Konzentration tendenziell zurück.

Magnesium verhielt sich in mancher Hinsicht ähnlich wie Kalzium (Abb. 16). Bei den Kontrollen₃₈₀ nahm der Magnesiumgehalt in den Pflanzenorganen wie folgt ab:

Blattspreiten (30-35 mmol/kg FG) > Blattstiel ≥ HW ≥ NW (13 mmol/kg FG).

NaCl-Salinität bewirkte in den Blättern eine signifikante transiente Abnahme des Magnesiumgehalts. Ein ähnlicher, wenn auch nicht so ausgeprägter Trend war in den Nebenwurzeln zu verzeichnen. Im Blattstiel und in der Hauptwurzel gab es keine signifikanten Änderungen.

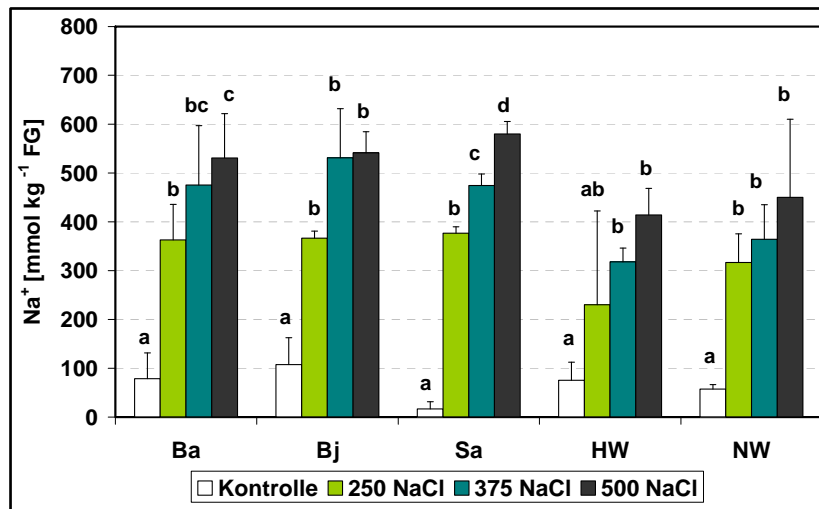


Abb. 12. Natriumgehalt bei verschiedenen Salinitäten unter [CO₂]₃₈₀.

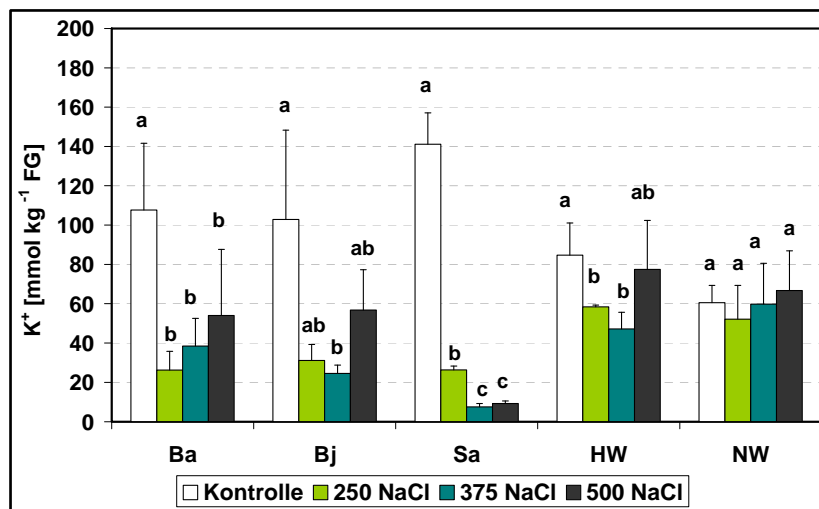


Abb. 13. Kaliumgehalt bei verschiedenen Salinitäten unter [CO₂]₃₈₀.

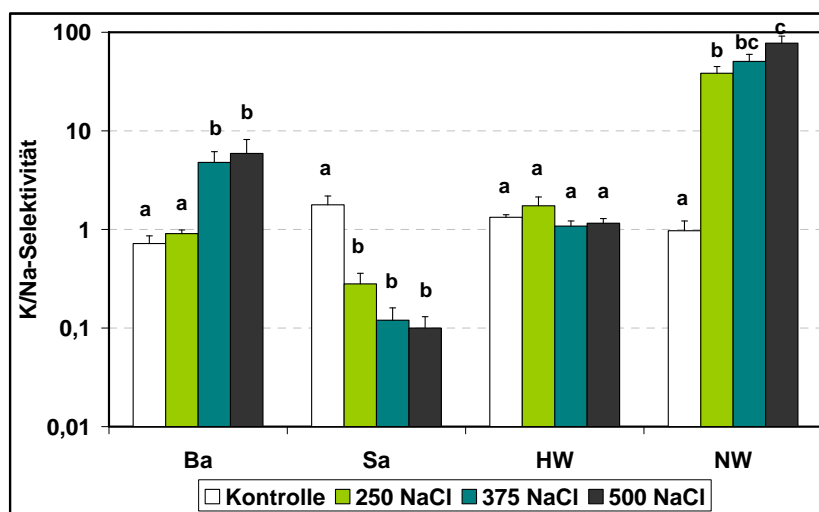


Abb. 14. Kalium/Natrium-Selektivität bei verschiedenen Salinitäten unter [CO₂]₃₈₀.

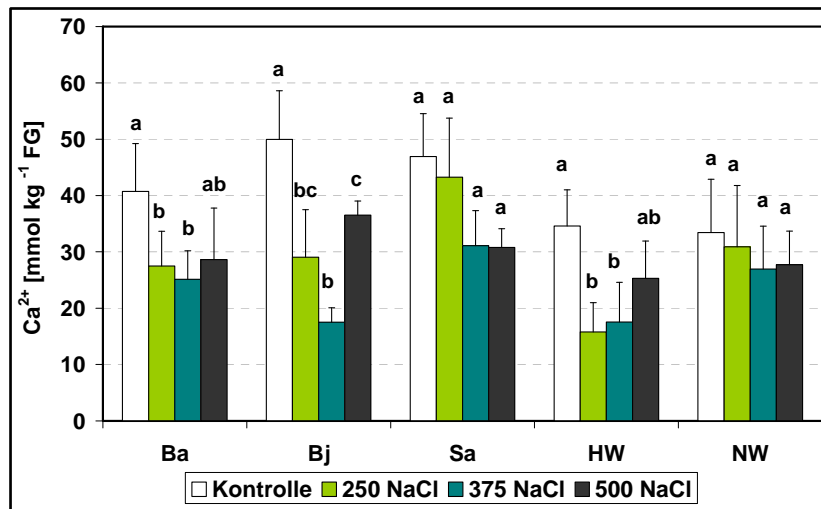


Abb. 15. Kalziumgehalt bei verschiedenen Salinitäten unter $[\text{CO}_2]_{380}$.

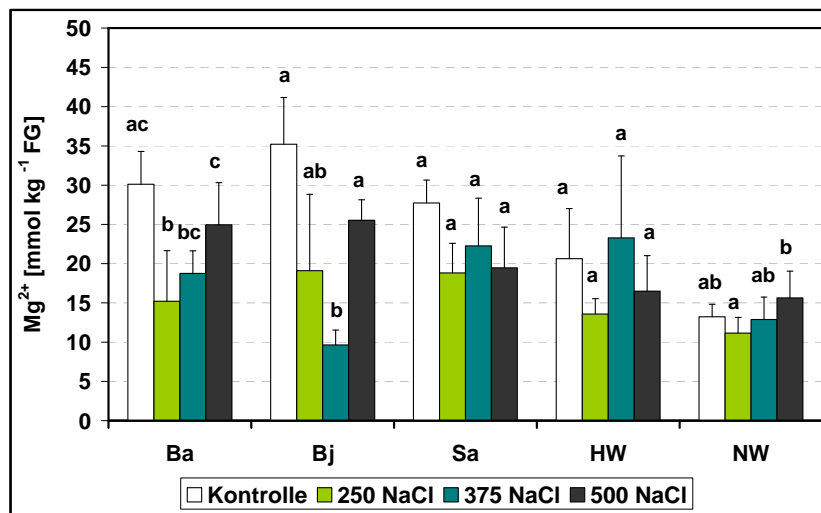


Abb. 16. Magnesiumgehalt bei verschiedenen Salinitäten unter $[\text{CO}_2]_{380}$.

3.7 Anionengehalte

Auch bei den Anionengehalten werden hier nur die Ergebnisse für natürlich atmosphärische CO₂-Konzentration dargestellt, da erhöhte CO₂-Konzentrationen wiederum nur wenige signifikante Änderungen bewirkten, die keinem bestimmten Muster folgten. Die Daten für erhöhte CO₂-Konzentration sind Anhang 1 (Abb. A1.16-A1.19) zu entnehmen.

Der Chloridgehalt der Kontrollen₃₈₀ lag in allen Organen deutlich über demjenigen der Nährlösung (Abb. 17). Er war in den adulten Blattspreiten mit ca. 100 mmol/l am höchsten und in den Wurzeln am niedrigsten (Hauptwurzel 33 mmol/l, Nebenwurzel 14 mmol/l).

Beeinflußt von NaCl-Salinität stieg der Chloridgehalt signifikant auf 400-700 mmol/l an. Zwischen moderater und hoher Salinität änderte sich die Chloridkonzentration größtenteils nur wenig. Die besalzten Pflanzen akkumulierten Chlorid am stärksten im Blattstiel.

Nitrat wurde von den Kontrollen₃₈₀ v.a. im Blattstiel gespeichert, der mit 100 mmol/l mit Abstand den höchsten Nitrat-Gehalt aufwies (Abb. 18). Es folgten die Wurzeln mit ca. 40 mmol/l, während die Blätter kaum Nitrat enthielten.

Salinität führte generell zu einem Rückgang an Nitrat, der signifikant in Blattstiel und Nebenwurzeln, transient signifikant in den adulten Blattspreiten und den Hauptwurzeln und tendenziell in den juvenilen Blattspreiten war.

Die Phosphatkonzentration betrug in den Blattspreiten und Wurzeln der Kontrollen₃₈₀ zwischen 10 und 22 mmol/l, im Blattstiel deutlich weniger (Abb. 19).

Unter Einfluß von NaCl-Salinität ging der Phosphatgehalt in den Blattspreiten signifikant um ca. ein Drittel zurück, während er in den Wurzeln signifikant auf das 1,6fache (Hauptwurzeln) bzw. 2,6fache (Nebenwurzeln) anstieg. Im Blattstiel blieb die Phosphatkonzentration mehr oder weniger konstant.

Hinsichtlich des Sulfatgehalts reagierten die verschiedenen Pflanzenorgane unterschiedlich auf Salinität (s. Anhang, Abb. A1.19a).

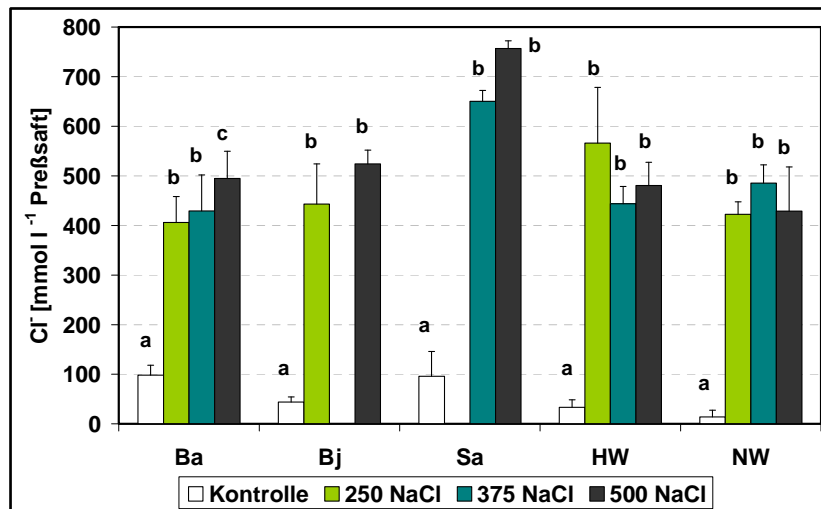


Abb. 17. Chloridgehalt bei verschiedenen Salinitäten unter $[\text{CO}_2]_{380}$.

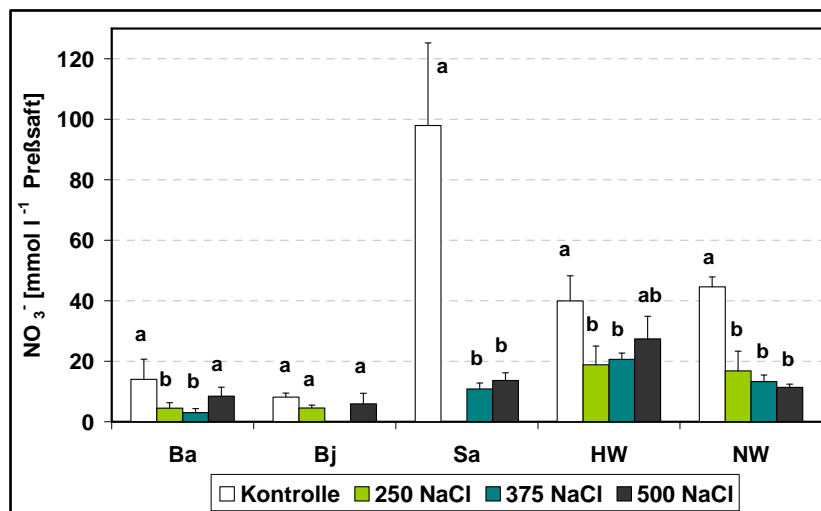


Abb. 18. Nitratgehalt bei verschiedenen Salinitäten unter $[\text{CO}_2]_{380}$.

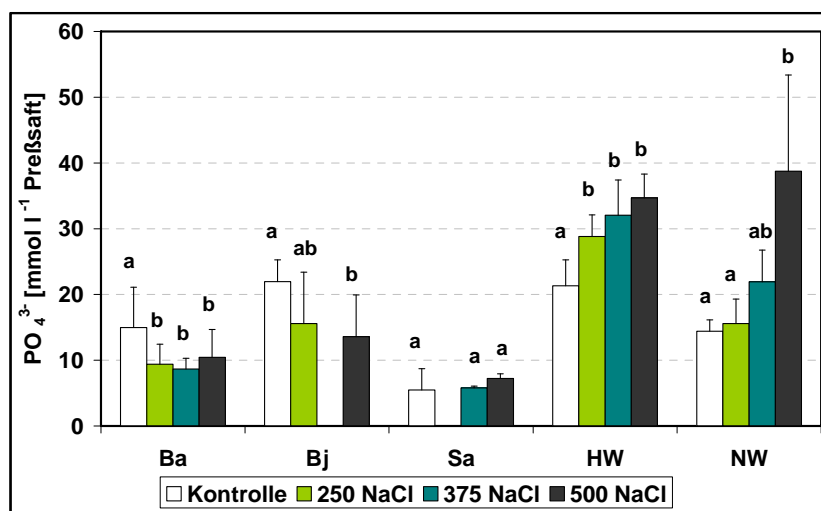


Abb. 19. Phosphatgehalt bei verschiedenen Salinitäten unter $[\text{CO}_2]_{380}$.

3.8 Kohlenstoff-, Stickstoff- und Schwefelgehalt

Der Kohlenstoffgehalt betrug bei den Kontrollen₃₈₀ in den Blättern und in den Hauptwurzeln ca. 45% des Trockengewichtes (Abb. 20a). Salinität bewirkte einen signifikanten Rückgang des C-Gehaltes auf 37% in den Blättern und auf ca. 40% in den Hauptwurzeln.

Unter erhöhter CO₂-Konzentration fiel die C-Abnahme in den Blättern etwas geringer aus (Abb. 20b). So war dort der Kohlenstoffgehalt in den besalzenen Pflanzen signifikant höher als bei [CO₂]₃₈₀.

Der Stickstoffgehalt war bei den Kontrollen₃₈₀ in den Blättern höher als in den Hauptwurzeln (Abb. 21a). NaCl-Salinität reduzierte den N-Gehalt in den Blättern signifikant um 18%, in den Hauptwurzeln tendenziell um 11%.

Erhöhtes CO₂ führte in den Blättern der Kontrollen und der besalzenen Pflanzen zu einer signifikanten N-Abnahme (Abb. 21b). Auch die Hauptwurzeln der Kontrollen, nicht aber diejenigen der Salzvarianten wiesen einen tendenziell geringeren N-Gehalt auf als bei [CO₂]₃₈₀. In beiden Organen wurde der N-Gehalt bei [CO₂]₅₂₀ durch Salinität nur sehr geringfügig und tendenziell reduziert.

Aus den C- und N-Gehalten ergab sich folgendes C/N-Verhältnis (Abb. 22a): Bei natürlich atmosphärischer CO₂-Konzentration lag das C/N-Verhältnis in der Hauptwurzel mit einem Wert von 13 höher als in den Blättern (ca. 10).

Das C/N-Verhältnis wurde bei [CO₂]₃₈₀ durch Salinität nicht beeinflusst. Unter erhöhtem CO₂ dagegen nahm es in beiden Organen tendenziell ab (Abb. 22b). Die Blätter der Kontrollen und der Salzvarianten wiesen bei [CO₂]₅₂₀ ein signifikant höheres, die Hauptwurzeln der Kontrollen ein tendenziell höheres C/N-Verhältnis auf als bei [CO₂]₃₈₀.

Salinität bewirkte eine tendenzielle Abnahme des Schwefelgehalts in den Blättern der [CO₂]₃₈₀-Varianten (s. Anhang 1, Abb. A1.20). Unter erhöhtem CO₂ wurde der S-Gehalt reduziert.

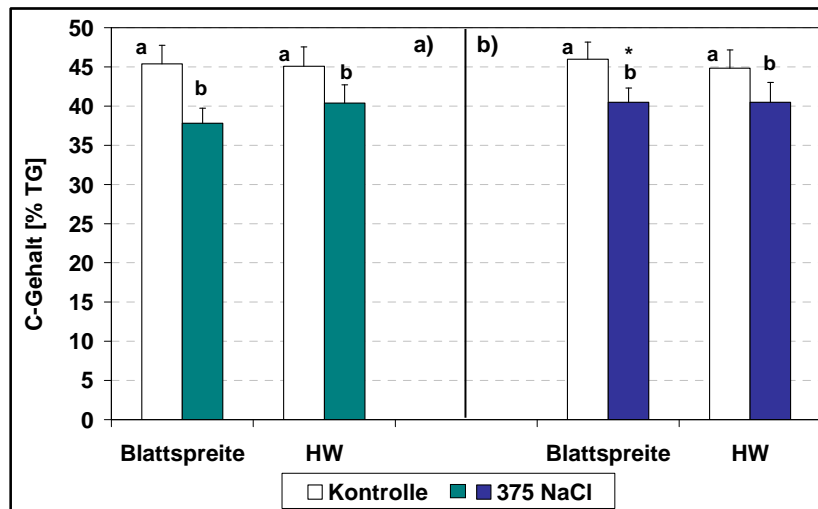


Abb. 20. Kohlenstoffgehalt der Kontrollen und der 375 NaCl-Varianten. a) [CO₂]₃₈₀; b) [CO₂]₅₂₀.

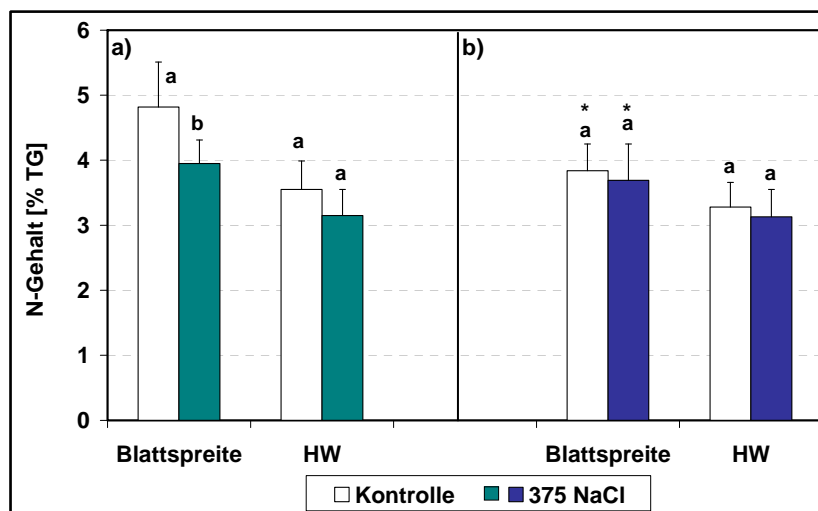


Abb. 21. Stickstoffgehalt der Kontrollen und der 375 NaCl-Varianten. a) [CO₂]₃₈₀; b) [CO₂]₅₂₀.

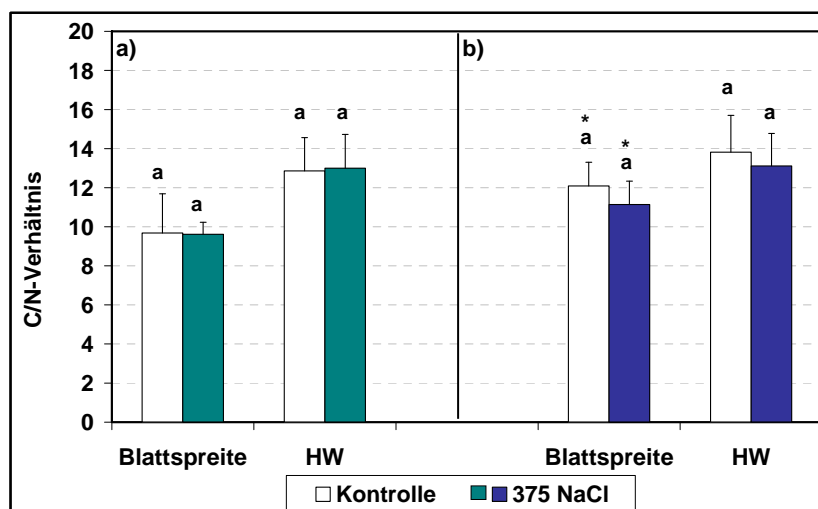


Abb. 22. C/N-Verhältnis der Kontrollen und der 375 NaCl-Varianten. a) [CO₂]₃₈₀; b) [CO₂]₅₂₀.

3.9 Kohlenhydratgehalt

Lösliche Kohlenhydrate waren bei den Kontrollen₃₈₀ hauptsächlich in den Wurzeln enthalten (Hauptwurzel 13 mg, Nebenwurzel 8 mg Kohlenhydrate/ml), in geringerer Menge in den Blättern (Abb. 23a).

Salinität bewirkte in der Hauptwurzel eine signifikante Zunahme des Gehalts an löslichen Kohlenhydraten auf das 1,7fache. In den anderen Organen dagegen nahm die Konzentration an Kohlenhydraten ab, und zwar signifikant in den Nebenwurzeln sowie in der Tendenz transient in den Blättern.

Unter erhöhter CO₂-Konzentration war eine generelle Entwicklung zu einer größeren Menge an Kohlenhydraten zu verzeichnen (Abb. 23b). Dies war signifikant in den alten Blättern der Kontrollen und der 375 NaCl-Varianten, in den juvenilen Blättern der 250- und 375 NaCl-Varianten sowie in den Nebenwurzeln der 375- und 500 NaCl-Varianten. In den Hauptwurzeln gab es einen tendenziellen Anstieg der Kohlenhydrate bei Hochsalz, verglichen mit [CO₂]₃₈₀.

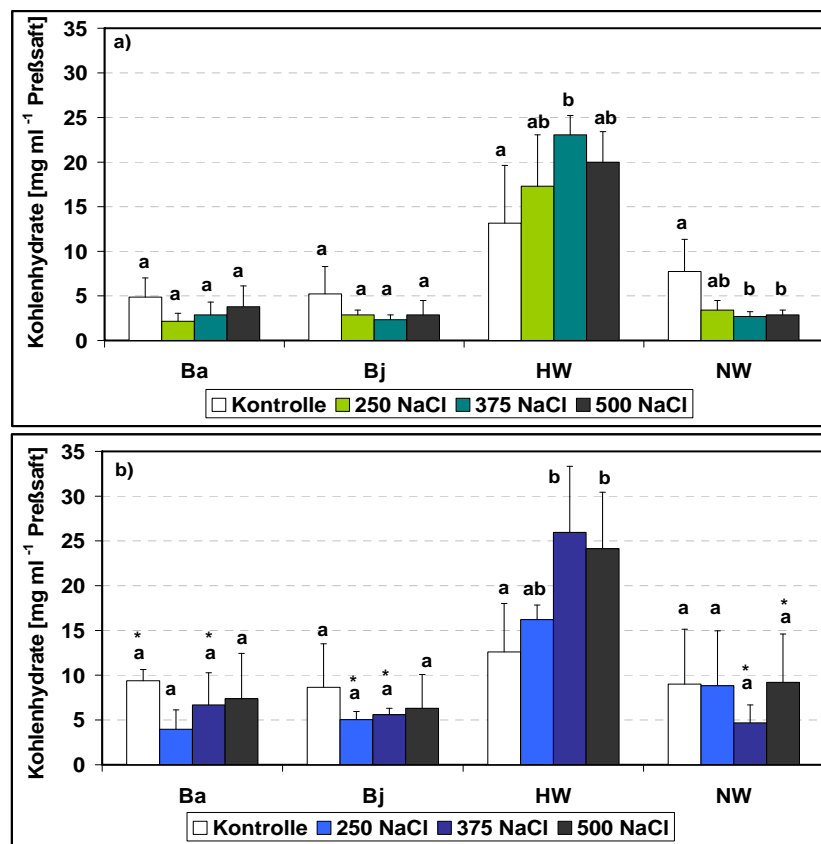


Abb. 23. Gehalt an löslichen Gesamt-Kohlenhydraten bei verschiedenen Salinitäten.
a) [CO₂]₃₈₀; b) [CO₂]₅₂₀.

Von den drei gemessenen Sacchariden (Saccharose, Glucose, Fructose) stellte die Saccharose im allgemeinen den Hauptanteil, v.a. in den Wurzeln (s. Anhang 1, Abb. A1.21-A1.23). Die Gehalte aller genannten Kohlenhydrate nahmen insbesondere in den Blättern bei NaCl-Salinität ab und unter erhöhter CO₂-Konzentration zu.

3.10 Aminosäuregehalt

Die Hauptwurzel der Kontrollen₃₈₀ enthielt deutlich mehr Prolin und andere Aminosäuren als die Blattspreiten (Abb. 24a; Anhang 1, Tab. A1.3).

Unter salinen Bedingungen stieg der Aminosäuregehalt in den Blättern und in der Hauptwurzel tendenziell an (s. Anhang 1, Tab. A1.3), was in erster Linie auf Prolin zurückzuführen war (Abb. 24a). Während die Konzentration der meisten Aminosäuren in den Blattspreiten salzbedingt zurückging, nahm der Prolingehalt signifikant um das 10fache zu. In der Hauptwurzel war die Aminosäure-Abnahme weniger ausgeprägt. Prolin erreichte mit einem Wert von ca. 70 µmol g TG⁻¹ einen deutlich höheren Wert als in den Blättern.

Erhöhte CO₂-Konzentration bewirkte im Fall der Kontrollen einen Rückgang fast aller Aminosäuren in beiden Pflanzenorganen, einschließlich Prolin (Abb. 24b; Anhang 1, Tab. A1.3). Bei den Salzvarianten dagegen nahm der Gehalt der meisten Aminosäuren zu, darunter auch derjenige von Prolin, welches in den Blättern eine tendenziell deutlich höhere Konzentration aufwies als bei [CO₂]₃₈₀. Der Prolingehalt in der Hauptwurzel dagegen blieb nahezu konstant.

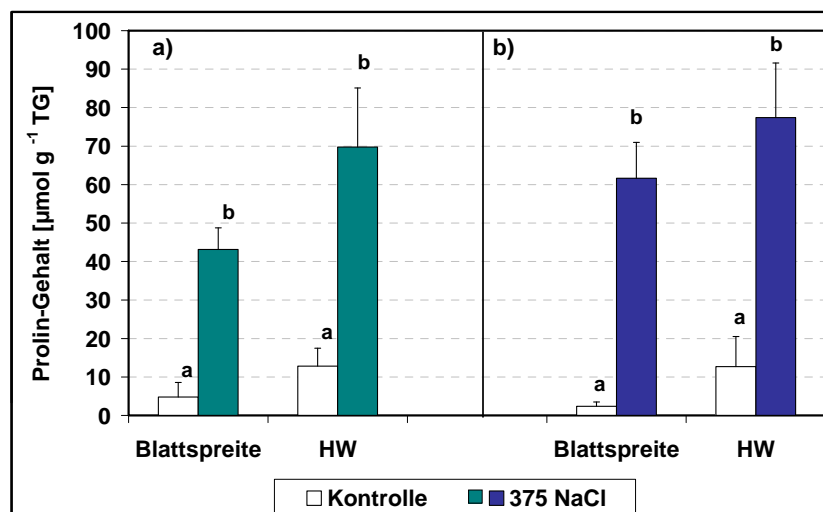


Abb. 24. Prolingehalt der Kontrollen und der 375 NaCl-Varianten. a) [CO₂]₃₈₀; b) [CO₂]₅₂₀.

3.11 Osmotische Bilanz

Die osmotische Bilanz (Abb. 25) zeigt, daß die osmotische Adaptation an Salinität bei *Aster tripolium* v.a. durch die Akkumulation von Natrium und Chlorid erfolgte. Das osmotische Potential konnte bei beiden CO₂-Varianten in allen Organen der Kontrollen sowie in den Blattspalten und –stielen der besalzten Pflanzen fast vollständig - zu über 90% - durch die analysierten Substanzen erklärt werden. Nur in den Nebenwurzeln der Salzvarianten gab es einen größeren Anteil von unbekannten Substanzen am osmotischen Potential, nämlich 11-14%. Vermutlich ist dies v.a. darauf zurückzuführen, daß in diesem Pflanzenorgan keine Aminosäuren mit eingerechnet werden konnten.

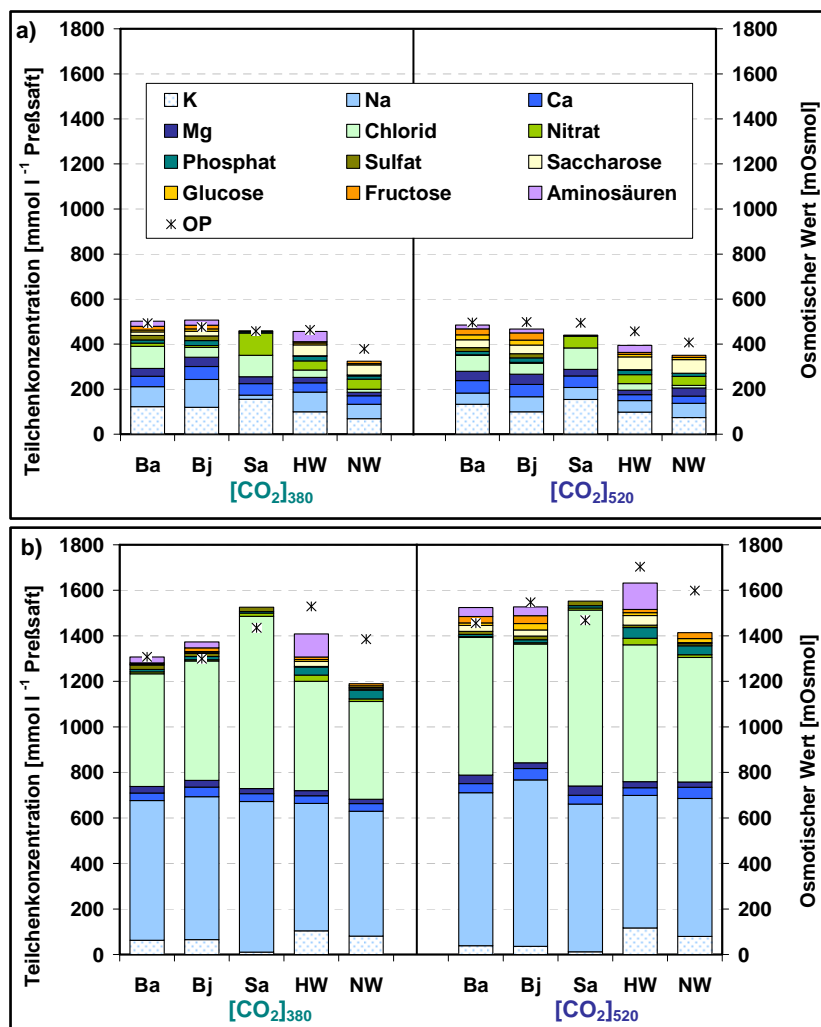


Abb. 25. Osmotische Bilanz bei [CO₂]₃₈₀ und [CO₂]₅₂₀. a) Kontrolle; b) 500 NaCl. Für den Blattstiel wurden keine Kohlenhydrate eingerechnet, da sie in diesem Organ nicht gemessen wurden. Dasselbe gilt für die Aminosäuren im Blattstiel und in den Nebenwurzeln.

3.12 Gehalt an löslichem Gesamtprotein

Bei den Kontrollen₃₈₀ enthielten die jungen Blätter und die Hauptwurzeln mit jeweils ca. 0,2 mg/ml Preßsaft die größte und die Nebenwurzeln (0,12 mg/ml Preßsaft) die geringste Menge an löslichem Gesamtprotein (Abb. 26a).

In den Blattspreiten und in den Wurzeln war ein deutlicher Einfluß von Salinität zu verzeichnen: Der Proteingehalt stieg signifikant um den Faktor 2 (in den juvenilen Blattspreiten) bis 3 (in den Hauptwurzeln) an. Bei Hochsalz wiesen die Hauptwurzeln den höchsten Proteingehalt auf.

Erhöhtes CO₂ beeinflusste den Proteingehalt positiv (Abb. 26b). Bis auf den Blattstiel reagierten alle Organe der Kontrollen mit einer tendenziellen, die adulten Blattspreiten sogar mit einer signifikanten Zunahme der Protein-Konzentration. Bei 375 NaCl₅₂₀ war der Proteingehalt in allen Organen signifikant höher als unter [CO₂]₃₈₀, wobei dieser Effekt in der Hauptwurzel mit einem Faktor von 1,8 am größten war.

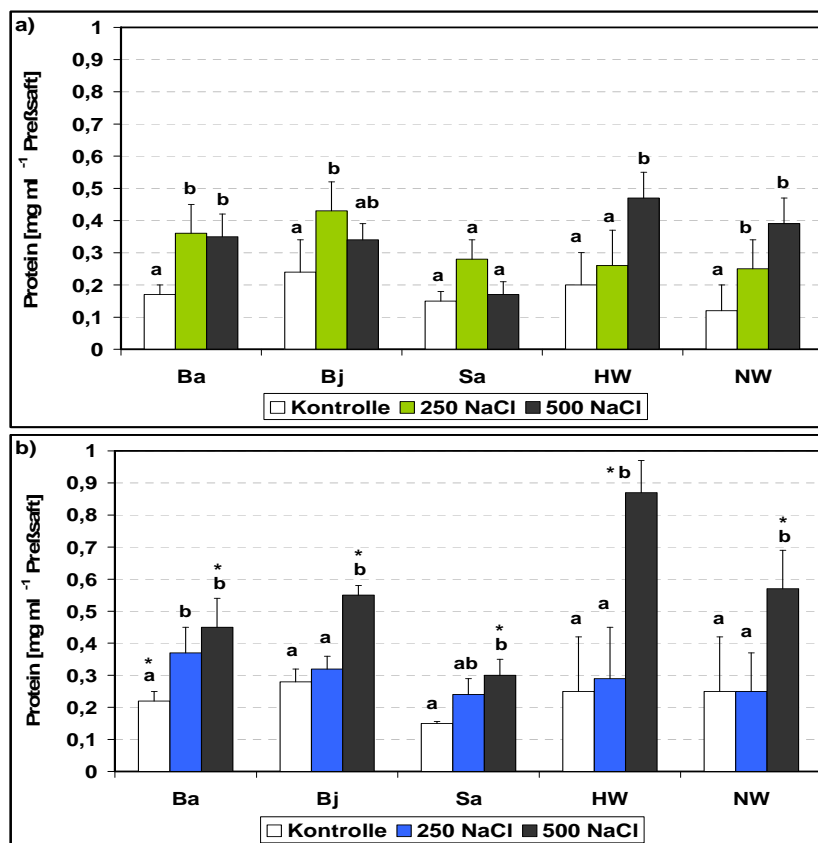


Abb. 26. Gehalt an löslichem Gesamt-Protein bei verschiedenen Salinitäten. a) [CO₂]₃₈₀; b) [CO₂]₅₂₀.

3.13 Analyse des Proteoms

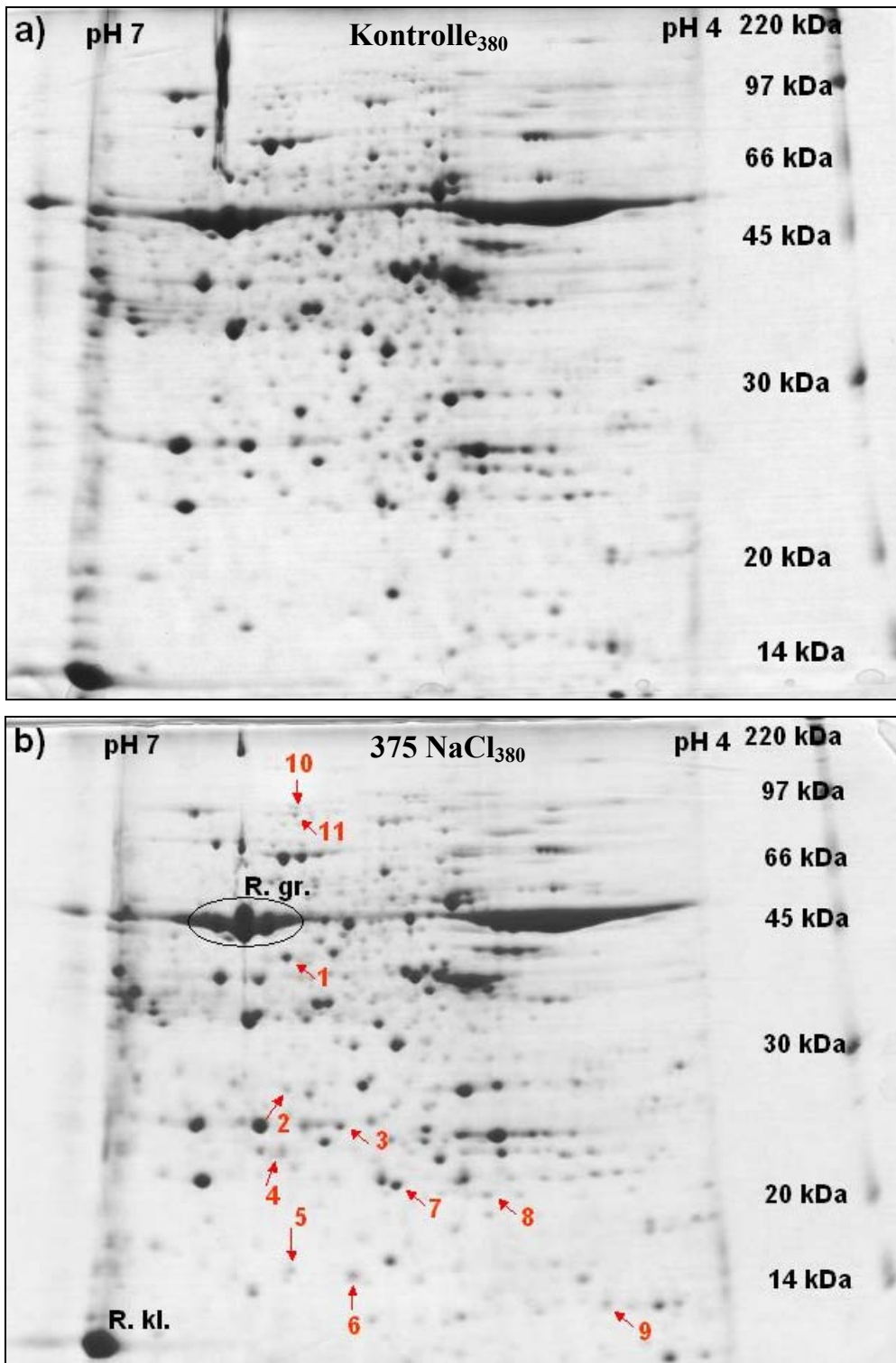
3.13.1 Prozentuale Anteile der „spots“ (Proteinflecken) am Gesamtprotein

Da sich die Gele der Sommerkulturen 2002 und 2003 sehr ähnelten, werden in Abb. 27 exemplarisch nur die Gele des Jahres 2002 gezeigt. In Anhang 1 (Abb. A1.24) finden sich die entsprechenden Gele der Kultur 2003.

In den Gelen wurden je 500 bis 600 „spots“ quantifiziert. Um die Gele der verschiedenen Ansätze miteinander zu vergleichen, wurden sog. Gel-Overlays erstellt, d.h. die „Mittelwert-Gele“ der vier Ansätze wurden mit Hilfe des Auswerteprogramms jeweils paarweise übereinandergelegt, und die Volumenprozent der sich entsprechenden „spots“ wurden miteinander verglichen. Abb. 28 zeigt die Overlays, beispielhaft dargestellt für die Sommerkultur 2002. Die beiden Gele eines Overlays sind in verschiedenen Farben (blau bzw. rot) dargestellt, so daß man aus der Farbe der „spots“ auf das Verhältnis der Proteinexpression zwischen den Gelen schließen kann. (Leider dominiert die vom Computerprogramm gewählte blaue Farbe über die rote, so daß die roten „spots“ nur verhältnismäßig schwach zu erkennen sind.)

Insgesamt gab es große Änderungen des Proteommusters: Nur bei 26-33% der „spots“ hatten Salinität bzw. erhöhte CO₂-Konzentration keine Auswirkungen auf die Expression (s. Anhang 1, Tab. A1.4). Daher mußte für die genauere Auswertung eine kleinere Anzahl von „spots“ eingegrenzt werden. Es wurden all jene „spots“ ausgewählt, deren Expression in beiden Kulturen bei NaCl-Salinität um mindestens das Doppelte erhöht war, da es sich hierbei vermutlich um Proteine handelt, die eine Rolle bei der Adaptation an Salinität spielen. Bei der Mehrzahl dieser „spots“ wurde die salzinduzierte Expressionserhöhung durch erhöhte CO₂-Konzentration weiter verstärkt. Bei der Auswahl wurde darauf geachtet, daß in allen Gelen ohne Ausnahme derselbe Trend vorhanden war.

Die Proteine der ausgewählten „spots“ 1 bis 9 wiesen unter natürlich atmosphärischen Bedingungen bei Salinität eine deutliche, vielfach signifikante Expressionserhöhung um mindestens 100% auf (Abb. 29). Bei den „spots“ 2 bis 9 war die Proteinexpression der Salzvarianten unter erhöhtem CO₂ höher als bei [CO₂]₃₈₀; bei den „spots“ 3 bis 7 war dieser Effekt besonders deutlich und signifikant. Die „spots“ 10 und 11 wurden ausgewählt, da ihre Expression zwar nicht bei [CO₂]₃₈₀, aber bei [CO₂]₅₂₀ salzbedingt deutlich anstieg. Bei „spot“ 10 war der Unterschied zwischen den CO₂-Ansätzen bei Salinität signifikant.



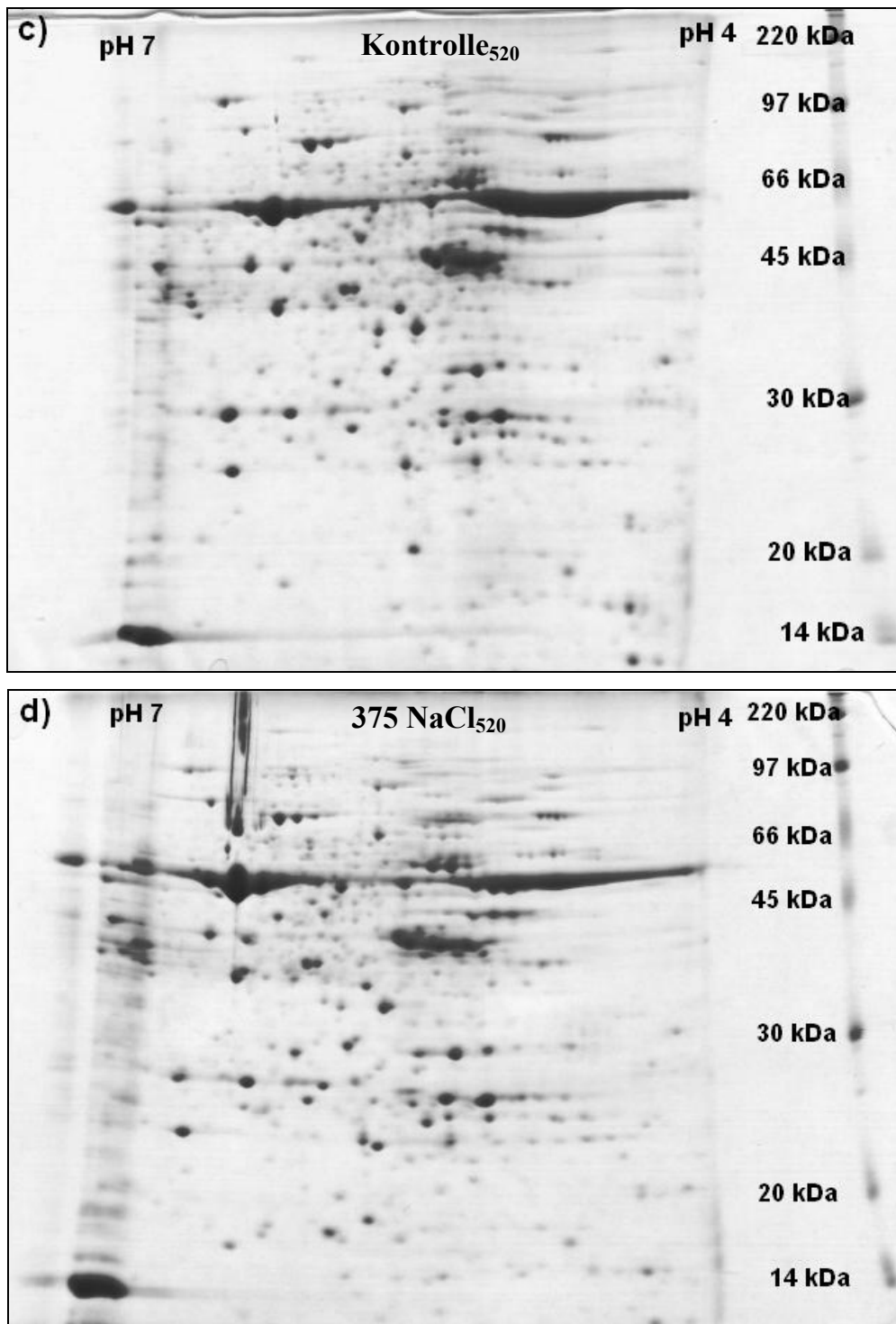
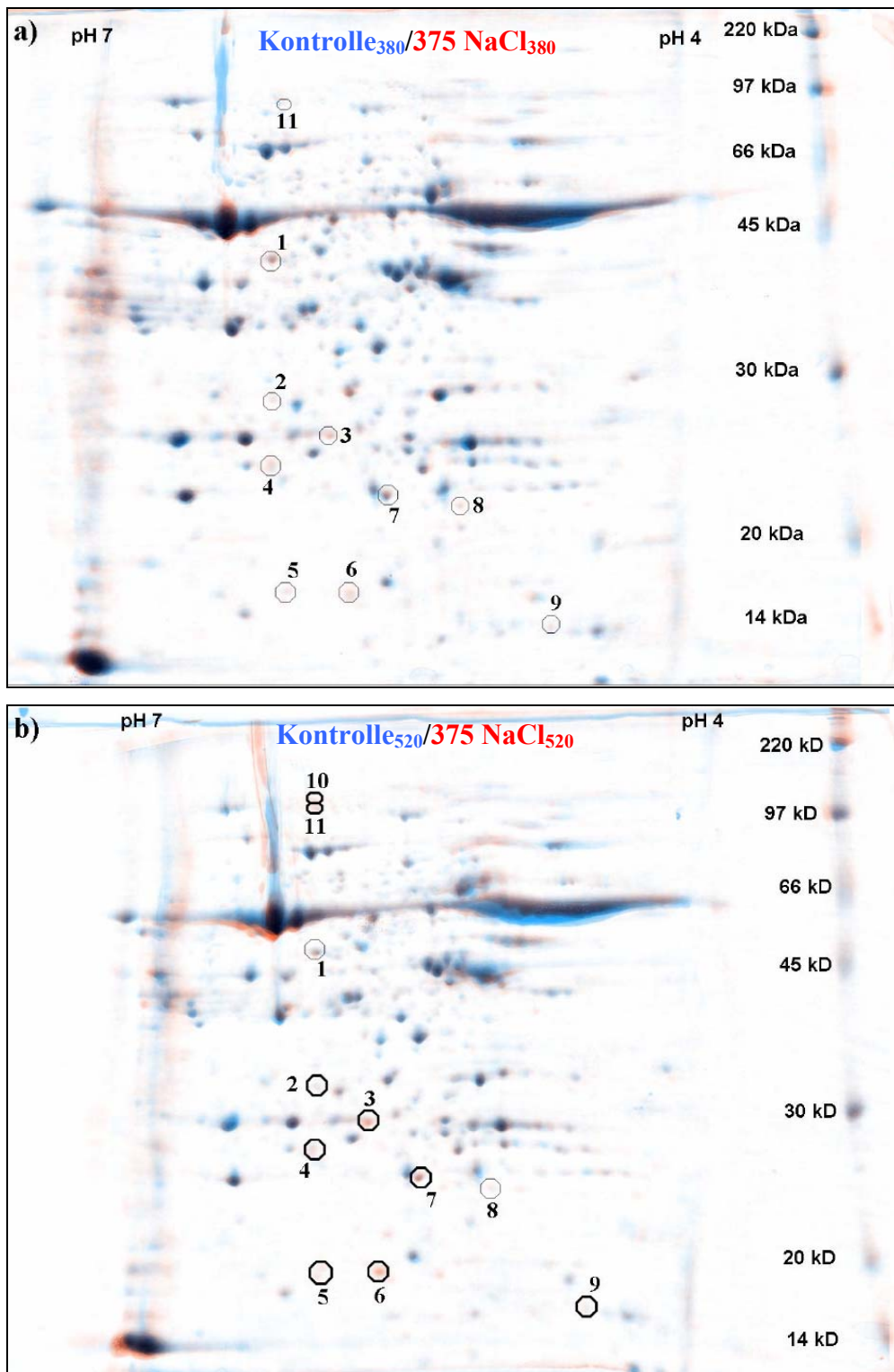


Abb. 27. Gele der Sommerkultur 2002. a) Kontrolle₃₈₀; b) 375 NaCl₃₈₀; c) Kontrolle₅₂₀; d) 375 NaCl₅₂₀. Die roten Pfeile und Zahlen markieren diejenigen Proteine, die zur genaueren Auswertung herangezogen wurden, da ihre Expression bei NaCl-Salinität verstärkt war (vgl. S. 48). „R. gr.“ (R. kl.) = große (kleine) Untereinheit der Rubisco.

NaCl-Effekt auf die Proteinexpression



CO₂-Effekt auf die Proteinexpression

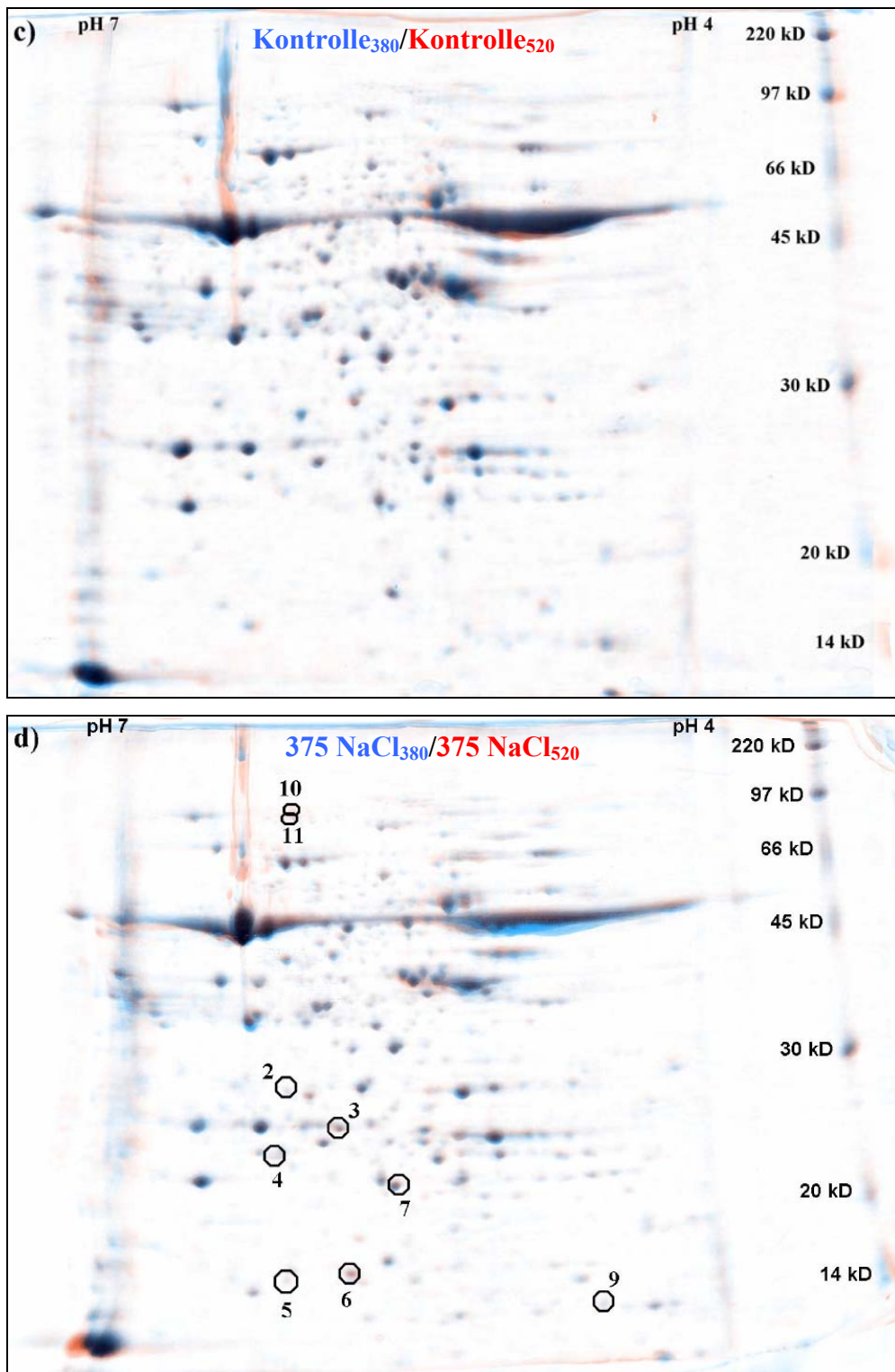


Abb. 28. Gel-Overlays der Sommerkultur 2002. a) Kontrolle₃₈₀ (blau) gegen 375 NaCl₃₈₀ (rot); b) Kontrolle₅₂₀ (blau) gegen 375 NaCl₅₂₀ (rot); c) Kontrolle₃₈₀ (blau) gegen Kontrolle₅₂₀ (rot); d) 375 NaCl₃₈₀ (blau) gegen 375 NaCl₅₂₀ (rot). Die Kreise markieren diejenigen Proteine, die zur genaueren Auswertung herangezogen wurden, da ihre Expression bei NaCl-Salinität verstärkt war (vgl. Erklärung im Text, S. 48). ○ = Expression bei Salinität erhöht; ● = salzinduzierte Expressionerhöhung durch erhöhtes CO₂ weiter verstärkt.

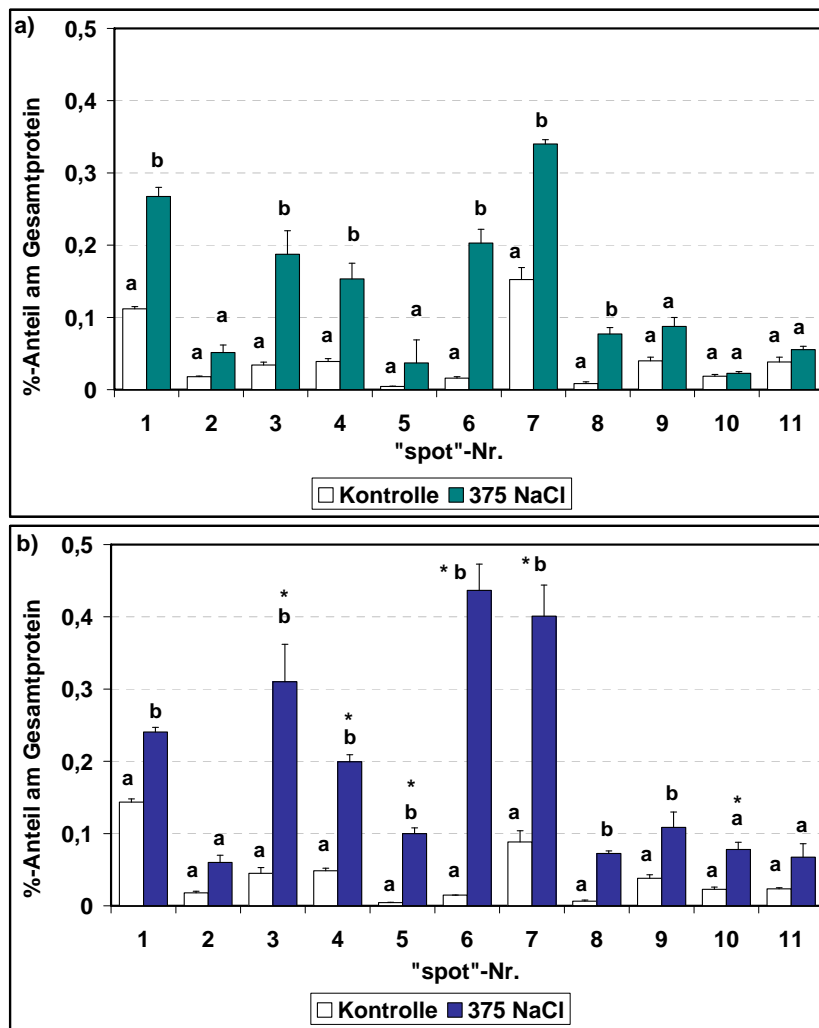


Abb. 29. Prozentuale Anteile am Gesamtprotein ausgewählter „spots“ bei den Kontrollen und bei 375 NaCl. a) [CO₂]₃₈₀; b) [CO₂]₅₂₀.

3.13.2 Identifizierung ausgewählter „spots“

Anhand von Molekulargewicht (MG) und isoelektrischem Punkt (pI) und auch dank ihrer großen Menge war die Rubisco mit ihren beiden Untereinheiten als einziges Protein recht problemlos zu identifizieren. Auf den Gelen fallen zwei auffällig große „spots“ bei ca. 50 kDa in einem pH-Bereich von ca. 6 sowie bei ca. 14 kDa in einem pH-Bereich von ca. 7 auf (Abb. 27, 28). Die Datenbanken (Swiss-Prot/TrEMBL-Datenbank; <http://www.expasy.org>) enthalten keine Daten aus der Gattung *Aster*, geben aber für die große bzw. kleine Rubisco-Untereinheit anderer Pflanzenarten folgende Werte an: MG 52-53 kDa, pI ca. 6±0,3 (große Untereinheit) bzw. MG 13-20 kDa, pI recht variabel, aber relativ häufig zwischen 5,5 und 7,5 (kleine Untereinheit). Aufgrund der Übereinstimmung zwischen der Datenbank und den expe-

rimentell ermittelten Werten kann man davon ausgehen, daß es sich bei den beiden oben genannten „spots“ um die Rubisco handelt. Sie sind in Abb. 27b durch die Kürzel „R. gr.“ (große Untereinheit) und „R. kl.“ (kleine Untereinheit) markiert.

Der Rubiscoanteil am Gesamtprotein nahm bei NaCl-Salinität (bei $[\text{CO}_2]_{380}$) tendenziell von ca. 16% auf ca. 20% zu (Abb. 30a). Erhöhtes CO_2 hatte keine Auswirkungen auf den Rubiscopegehalt der Kontrollen (Abb. 30b). Die Salzvarianten jedoch enthielten tendenziell ca. 10% mehr Rubisco als bei $[\text{CO}_2]_{380}$.

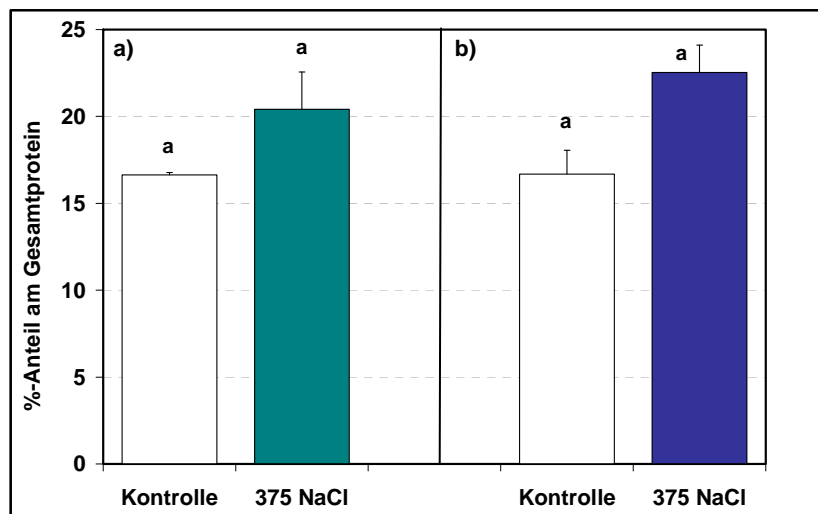


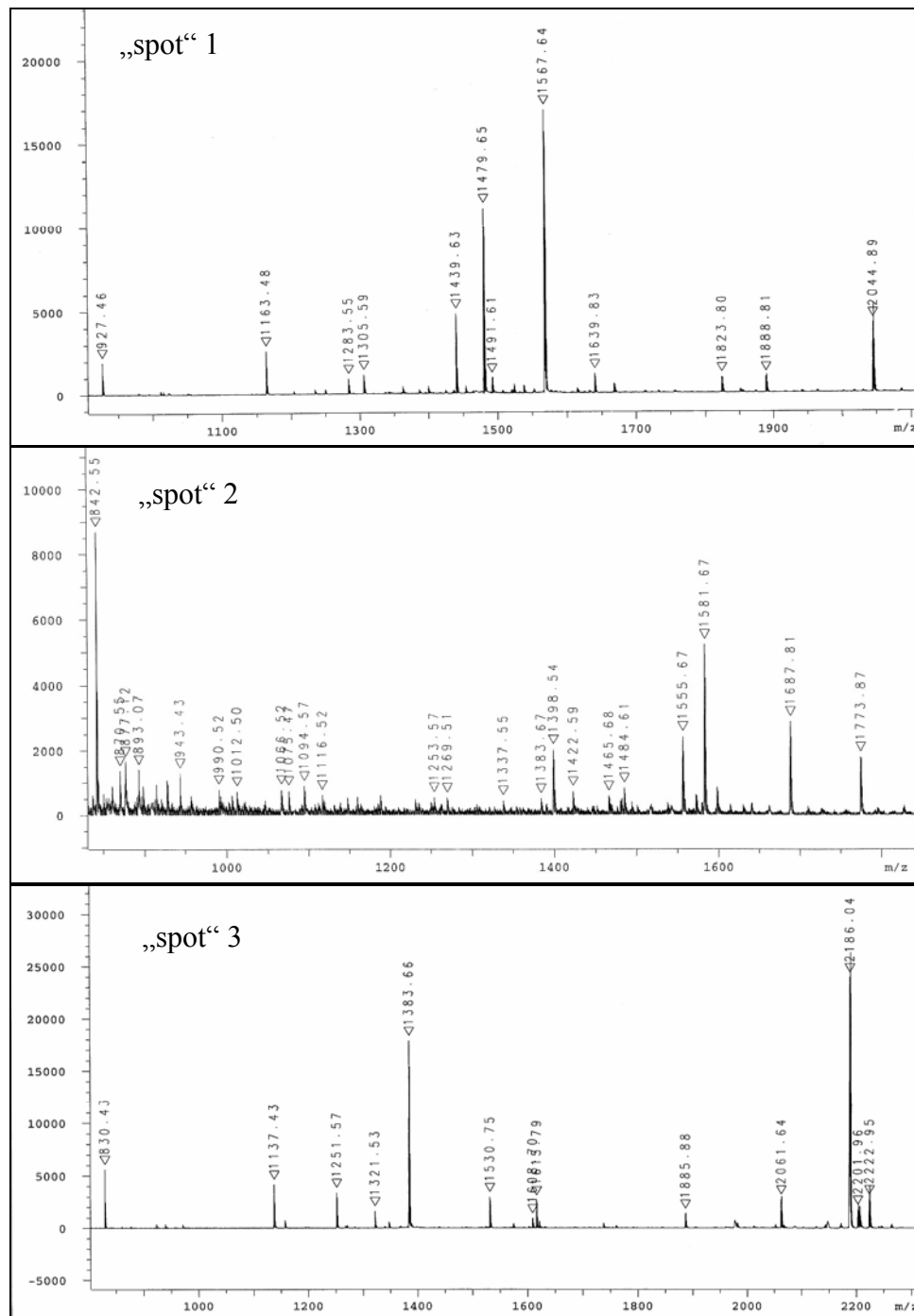
Abb. 30. Prozentualer Anteil der Rubisco am Gesamtprotein bei den Kontrollen und bei 375 NaCl.
a) $[\text{CO}_2]_{380}$; b) $[\text{CO}_2]_{520}$.

Ansonsten brachte die Suche nach Molekulargewicht (MG) und isoelektrischem Punkt (pI) in der Swiss-Prot/TrEMBL-Datenbank leider keine eindeutigen Ergebnisse, da die Datenbanken nur verhältnismäßig wenige Pflanzen enthalten, bei denen es sich zudem größtenteils um Nutzpflanzen und um *Arabidopsis* handelt. So konnte nicht gezielt nach Proteinen von *Aster tripolium* oder der Gattung *Aster* gesucht werden. Für die einzelnen „spots“ lieferten die Datenbanken jeweils eine längere Liste von Proteinen, die die angegebenen Kriterien erfüllten. Tab. 3 enthält eine Auswahl aus diesen Listen mit Proteinen, die eine relevante Funktion im Hinblick auf die Adaptation an Salinität spielen könnten.

Tab. 3. Identifizierung der „spots“ 1-11 anhand ihres Molekulargewichtes (MG) und ihres isoelektrischen Punktes (pI). Die zweite bzw. dritte Spalte von links geben die experimentell aus den Gelen ermittelten Daten der Proteine an. Blau und unterstrichen dargestellte Treffer weisen auf Überschneidungen mit Tab. 4 (MALDI-TOF-MS) hin.

„spot“ Nr.	MG [kDa]	pI	Ausgewählte Treffer aus der Swiss- Prot/TrEMBL-Datenbank (Originalangaben in Englisch)	Passende Literaturhinweise
1	43,05 ±0,79	5,96 ±0,02	<ul style="list-style-type: none"> putrescine N-methyltransferase (Spermidin-Synthese): MG=41-45 kDa, pI=5,7-6,1 	
2	27,33 ±1,53	5,65 ±0,35	<ul style="list-style-type: none"> <u>l-ascorbate peroxidase</u>: MG=27-28 kDa, pI=5,5-5,8 stress-related protein: MG=27,5 kDa, pI=5,9 salt-tolerance protein: MG=27,6 kDa, pI=5,4 	<ul style="list-style-type: none"> Ascorbat-Peroxidase: MG=28 kDa, pI=5,8 (Salekdeh et al., 2002b; Mansour et al, 2003)
3	24,76 ±1,31	5,48 ±0,25	<ul style="list-style-type: none"> osmotin-like precursor OSML15: MG=25kDa, pI=5,5,6 <u>glutathione S-transferase</u>: MG=24-25 kDa, pI=5,2-5,6 →<u>MALDI-Treffer bei „spot“ 5 (Tab. 3)</u> osmotin-like protein precursor (fragment) TMP-1 : MG=24,2 kDa, pI=5,66 aquaporin: MG=25 kDa, pI=5,3-5,7 	<ul style="list-style-type: none"> Dehydrin: MG=25,4 kDa, pI=5,3 (Renaut et al., 2004) CRT/DRE binding factor: MG=23,4 kDa, pI=5,5 (Renaut et al., 2004) GST: MG=25 kDa; pI=5,5 (Ndimba et al., 2005)
4	23,33 ±1,53	5,77 ±0,32	<ul style="list-style-type: none"> <u>superoxide dismutase</u>: MG=22 kDa, pI=5,4-5,8 →<u>MALDI-Treffer bei „spot“ 5 (Tab. 3)</u> germin-like precursor: MG=21-22,5 kDa, pI=5,2-5,8 <u>glutathione S-transferase</u>: MG=24-25 kDa, pI=5,2-5,6 →<u>MALDI-Treffer bei „spot“ 5 (Tab. 3)</u> <u>ATP synthase β subunit precursor</u>: MG=24-25 kDa, pI=5,3-5,8 	<ul style="list-style-type: none"> nicht identifiziertes Protein: 24,8 kD, saurer pH-Bereich (Uno et al., 1996) Osmotin: MG=25,1 kDa, pI=6,1 (Anžlovar & Dermastia, 2003)
5	18,0 ±2,0	5,70 ±0,26	<ul style="list-style-type: none"> dehydrin: MG=20,8 kDa, pI=5,4 dessication-related protein PCC27-45: MG=16,2 kDa, pI=5,9 glutathione peroxidase: MG=18 kDa, pI=5,6 heat shock proteins (HSP) class I: MG=17-18 kDa, pI ca. 5,8 ubiquitin conjugating enzyme: MG=17 kDa, pI=5,4-5,6 	<ul style="list-style-type: none"> low M_r HSPs: MG=18-19 kDa, pI=5,4 (Dell'Aquila, 2004) HSP : MG=18 kDa; pI=5,8 (Hajheidari et al., 2005)
6	17,33 ±2,31	5,37 ±0,23	<ul style="list-style-type: none"> chaperonin (chloroplast): MG=20 kDa, pI=5,2 <u>HSPs</u>: MG=17 kDa, pI=5,2-5,3 salt protein: MG=15 kDa, pI=5,2 ubiquitin conjugating enzyme: MG=17 kDa, pI=5,4-5,6 	<ul style="list-style-type: none"> low M_r HSPs: MG=18-19 kDa, pI=5,4 (Dell'Aquila, 2004)
7	21,67 ±1,53	5,20 ±0,26	<ul style="list-style-type: none"> germin-like protein subfamily 1 precursor: MG=21,22 kDa, pI=5,2-5,3 HSP precursor (chloroplast): MG=21 kDa, pI=5,1 HSP precursor (mitochondrium): MG=20 kDa, pI=4,9-5,3 <u>chlorophyll a-b binding protein</u>: MG=22-23 kDa, pI=4,9-5,2 	<ul style="list-style-type: none"> HSP20 classIII (Chloroplast): MG=22,5 kDa, pI=5,1 (Renaut et al., 2004) HSP (Mitochondrium): MG=22 kDa, pI=4,96 (Renaut et al., 2004)
8	20,81 ±1,39	4,81 ±0,25	<ul style="list-style-type: none"> HSP precursor (chloroplast): MG=21 kDa, pI=5,1 HSP precursor (mitochondrium): MG=20 kDa, pI=4,9-5,3 	<ul style="list-style-type: none"> HSP20 classIII (Chloroplast): MG=22,5 kDa, pI=5,1 (Renaut et al., 2004) HSP (Mitochondrium): MG=22 kDa, pI=4,96 (Renaut et al., 2004)
9	16,56 ±1,80	4,29 ±0,29	keine relevanten Treffer	
10	105,47 ±3,65	5,71 ±0,29	<ul style="list-style-type: none"> HSP 101: MG=101 kDa, pI=5,8 Ca-transporting ATPase 3 (ER-type): MG=109 kDa, pI=5,8 P-ATPases: MG=104-105 kDa, pI=5,3-6,0 PEP carboxylase: MG=109 kDa, pI=5,7-6,0 	
11	97,27 ±3,05	5,70 ±0,30	<ul style="list-style-type: none"> HSP 101: MG=101 kDa, pI=5,8 	

Da sich anhand des Molekulargewichtes und des isoelektrischen Punktes die Proteine nicht eindeutig bestimmen ließen, wurden einige der „spots“ mit MALDI-TOF-MS analysiert. Abb. 31 zeigt die Massenspektren („peptide mass fingerprints“) dieser Analyse.



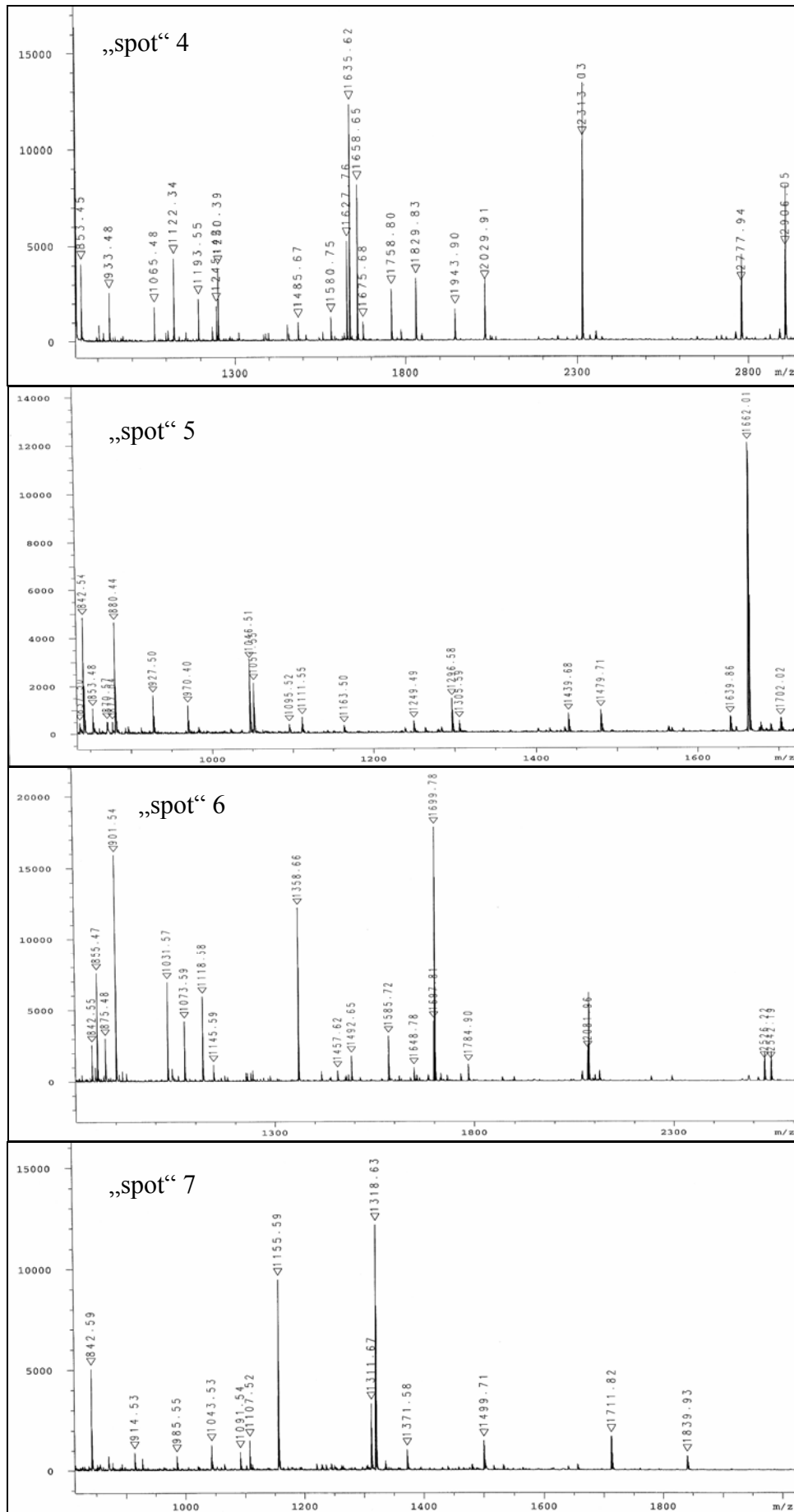


Abb. 31. „Peptide mass fingerprints“ der mittels MALDI-TOF-MS analysierten Proteine.

Aus den oben genannten Gründen lieferten die Datenbanken leider auch für die „peptide mass fingerprints“ keine eindeutigen Ergebnisse, sondern erneut Listen von möglichen Treffern. Tab. 4 enthält wiederum eine Auswahl aus diesen Listen mit Proteinen, die eine relevante Funktion im Hinblick auf die Adaptation an Salinität spielen könnten.

Tab. 4. Identifizierung der „spots“ 1-7 anhand ihrer „peptide mass fingerprints“ (Originalangaben aus den Datenbanken in Englisch). Blau und unterstrichen dargestellte Treffer weisen auf Überschneidungen mit Tab. 3 (Identifizierung anhand MG und pI) hin.

„spot“	Ausgewählte Treffer aus der Mascot-Datenbank	Ausgewählte Treffer aus der Swiss-Prot/TrEMBL-Datenbank
1	<ul style="list-style-type: none"> HSP 90 glutathione peroxidase like protein ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 	<ul style="list-style-type: none"> phytochrome C
2	<ul style="list-style-type: none"> stress-induced protein <u>peroxidase K fragment</u> NADH-dehydrogenase subunit F 	<ul style="list-style-type: none"> <u>peroxidase 2 fragment</u> embryonic abundant-like protein
3	<ul style="list-style-type: none"> rubisco large subunit 	<ul style="list-style-type: none"> phytochrome A
4	<ul style="list-style-type: none"> <u>ATP synthase β subunit</u> putative peroxidase disease resistance-like protein 	<ul style="list-style-type: none"> <u>ATP synthase β chain</u> disease resistance-like protein
5	<ul style="list-style-type: none"> <u>superoxide dismutase</u> →in Tab. 2 Treffer bei „spot“ 4 disease resistance protein 	<ul style="list-style-type: none"> <u>glutathione S-transferase</u> →in Tab. 2 Treffer bei „spot“ 4 <u>superoxide dismutase</u> →in Tab. 2 Treffer bei „spot“ 4 phytochrome A
6	<ul style="list-style-type: none"> <u>18,1 kDa class I HSP</u> cation/hydrogen exchanger 	<ul style="list-style-type: none"> <u>HSP 20 family</u> disease resistance protein
7	<ul style="list-style-type: none"> <u>chlorophyll a-b binding protein</u> rubisco large subunit 	<ul style="list-style-type: none"> <u>chlorophyll a-b binding protein</u>

Vergleicht man die Trefferlisten für Molekulargewicht/isoelektrischer Punkt und für die „peptide mass fingerprints“, fallen einige Überschneidungen auf, die die Trefferwahrscheinlichkeit für die entsprechenden Proteine deutlich erhöhen. Eindeutig sind hierbei die Ascorbat-Peroxidase bei „spot“ 2, die ATP-Synthase-Untereinheit bei „spot“ 4, das Hitzeschockprotein bei „spot“ 6 und das „Chlorophyll a-b binding protein“ bei „spot“ 7. Hinsichtlich der Superoxid-Dismutase (SOD) und der Glutathion-S-Transferase (GST) scheint es auf den ersten Blick Widersprüche zu geben, da sie in den beiden Trefferlisten unterschiedlichen „spots“ (3-5) zugeordnet sind. Allerdings paßt die SOD - in Tab. 3 laut Datenbank „spot“ 4 zugeordnet - vom theoretischen Molekulargewicht (ca. 22 kDa) und isoelektrischen Punkt (5,4-5,8) her fast

genausogut zu den experimentell ermittelten Daten von „spot“ 5 ($MG=18\pm 2$, $pI=5,7\pm 0,26$), zumal die Molekulargewichtsbestimmung in 2D-Gelen nicht ganz exakt sein kann und man das Molekulargewicht aufgrund evtl. auftretender leichter „smile-Effekte“ eher zu niedrig als zu hoch bestimmen wird. Die Trefferlisten sprechen außerdem dafür, daß die GST im Laufe der Versuchsdurchführung vermutlich in verschiedene Fragmente aufgeteilt wurde und diese in kleinen Anteilen in mehreren „spots“, z.B. in den „spots“ 3, 4 und 5, enthalten waren. Für diese These spricht auch, daß die „spots“ 3 bis 5 in unmittelbarer Nähe zu anderen „spots“ liegen und diese „Nachbarspots“ nicht in allen Gelen klar voneinander zu trennen waren, so auch nicht in denjenigen Gelen, aus denen die Proben für die MALDI-Analyse entnommen wurden. So konnten sich leicht 2 verschiedene Proteine vermischen.

Aufgrund der Überschneidungen zwischen den beiden Trefferlisten und der gerade dargelegten Überlegungen lassen sich den „spots“ 2, 4, 5, 6 und 7 die in Tab. 5 aufgeführten Proteine mit recht hoher Wahrscheinlichkeit zuordnen:

Tab. 5. Wahrscheinliche Zuordnung von Proteinen zu einigen „spots“ aufgrund von Überschneidungen der in Tab. 3 und 4 aufgelisteten Treffer.

„spot“	MG [kDa] (aus Gelen ermittelt)	pI (aus Gelen ermittelt)	Proteinzuzuordnung (einschließlich MG- und pI-Werten aus der Swiss-Prot/TrEMBL-Datenbank)
2	$27,33\pm 1,53$	$5,65\pm 0,35$	Ascorbat-Peroxidase: MG=27-28 kDa; pI=5,5-5,8
4	$23,33\pm 1,53$	$5,77\pm 0,32$	ATPase β-Untereinheit: MG=24-25 kDa; pI=5,3-5,7 vermutlich gemischt mit wenig Glutathion-S-Transferase-Fragment (diese vermutlich fragmentiert und auch in anderen „spots“ zu finden, z.B. 3 und 5): MG=24-25 kDa; pI=5,2-5,6
5	$18,0\pm 2,0$	$5,70\pm 0,26$	Superoxid-Dismutase: MG=ca. 22 kDa; pI=5,4-5,8 vermutlich gemischt mit wenig Glutathion-S-Transferase-Fragment (diese vermutlich fragmentiert und auch in anderen „spots“ zu finden, z.B. 4 und 5): MG=24-25 kDa; pI=5,2-5,6
6	$17,33\pm 2,31$	$5,37\pm 0,23$	Hitzeschock-Protein (HSP 20-Familie, Klasse I): MG=17-20 kDa; pI=5,2-5,3
7	$21,67\pm 1,53$	$5,20\pm 0,26$	„Chlorophyll a-b binding protein“: MG=22-23 kDa; pI=4,9-5,2

3.14 Bestimmung der Aktivität von Enzymen, die eine salzbedingt erhöhte Expression aufweisen

3.14.1 Aktivitäten antioxidativer Enzyme

3.14.1.1 Superoxid-Dismutase (SOD)

Bezogen auf mg Gesamtprotein bewirkte Salinität unter natürlich atmosphärischer CO₂-Konzentration einen leichten, tendenziellen Anstieg der SOD-Aktivität (Abb. 32a). Erhöhtes CO₂ hatte keinen signifikanten Einfluß auf die SOD-Aktivität der Kontrollen (Abb. 32b). Die Aktivität der Salzvarianten dagegen war unter [CO₂]₅₂₀ signifikant höher (Faktor 1,6) als bei [CO₂]₃₈₀ und signifikant doppelt so hoch wie bei den Kontrollen₅₂₀.

Die spezifische Aktivität, d.h. die Aktivität bezogen auf die SOD- Menge, wurde durch Salinität um ca. 90% reduziert (Abb. 32c). Erhöhtes CO₂ hatte keinen signifikanten Einfluß auf die spezifische Aktivität (Abb. 32d).

3.14.1.2 Ascorbat-Peroxidase (APO)

Die APO-Aktivität war von der Größenordnung her deutlich geringer als die SOD-Aktivität. Bezogen auf mg Gesamtprotein zeigte sie ebenfalls einen leichten, tendenziellen Anstieg unter NaCl-Salinität (Abb. 33a). Erhöhte CO₂-Konzentration beeinflusste nur die Aktivität der Salzvarianten (Abb. 33b). Diese nahm, verglichen mit [CO₂]₃₈₀, signifikant um das 1,7fache zu und war ungefähr doppelt so hoch wie bei den Kontrollen₅₂₀.

Die spezifische Aktivität ging bei [CO₂]₃₈₀ salzbedingt signifikant um ca. 50% zurück (Abb. 33c). Erhöhtes CO₂ bewirkte bei Salinität eine signifikante Steigerung der Aktivität (Abb. 33d).

3.14.1.3 Glutathion-S-Transferase (GST)

Die GST-Aktivität ähnelte von der Größenordnung her der APO-Aktivität. Salinität bewirkte unter natürlich atmosphärischer CO₂-Konzentration keine Veränderung der GST-Aktivität (Abb. 34a). Erhöhtes CO₂ hatte keinen signifikanten Einfluß auf die Aktivität der Kontrollen (Abb. 34b). Die Aktivität der Salzvarianten dagegen war bei [CO₂]₅₂₀ signifikant höher als bei

[CO₂]₃₈₀ und nahm, verglichen mit den Kontrollen₅₂₀, signifikant um mehr als das Doppelte zu.

Die spezifische Aktivität der GST konnte nicht berechnet werden, da dieses Enzym vermutlich fragmentiert und auf mehrere „spots verteilt war (s. Kap. 3.13.2).

Die Ergebnisse zeigen, daß alle gemessenen Enzyme in ähnlicher Weise auf Salinität und erhöhtes CO₂ reagierten, was auch in Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Proteom-Analyse steht.

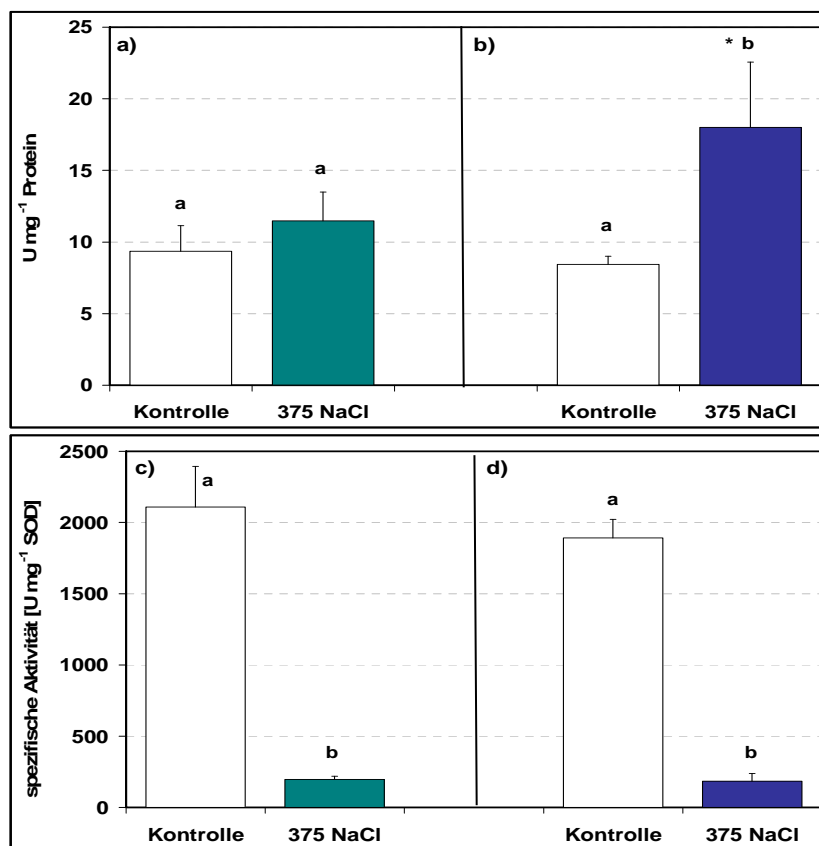


Abb. 32. Superoxid-Dismutase-Aktivität der Kontrollen und der 375 NaCl-Varianten.
a), b) Aktivität/mg Gesamtprotein; c), d) spezifische Aktivität; a), c) [CO₂]₃₈₀; b), d) [CO₂]₅₂₀.

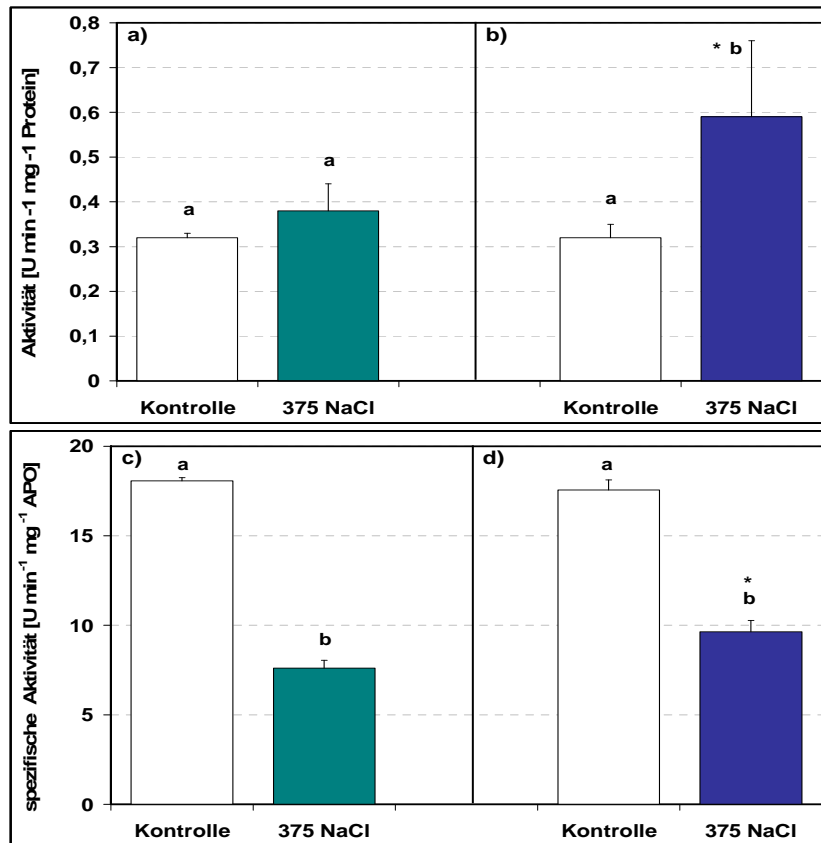


Abb. 33. Ascorbat-Peroxidase-Aktivität der Kontrollen und der 375 NaCl-Varianten. a), b) Aktivität/mg Gesamtprotein; c), d) spezifische Aktivität; a), c) [CO₂]₃₈₀; b), d) [CO₂]₅₂₀.

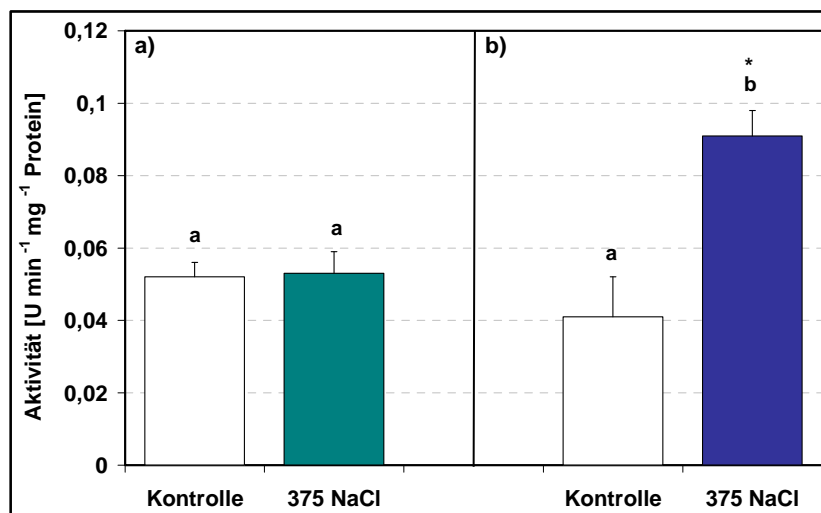


Abb. 34. Glutathion-S-Transferase-Aktivität/mg Gesamtprotein der Kontrollen und der 375 NaCl-Varianten. a) [CO₂]₃₈₀; b) [CO₂]₅₂₀.

3.14.2 Aktivitäten von P-ATPase, V-ATPase und F-ATPase

Grundsätzlich gab es keine Unterschiede in den Aktivitäten der drei ATPasen (Abb. 35). Salinität bewirkte einen signifikanten Anstieg der ATPase-Aktivität um ca. 20% (Abb. 35a). Erhöhtes CO₂ hatte keinen Einfluß auf die ATPase-Aktivitäten der Kontrollen (Abb. 35b). Unter NaCl-Salinität dagegen war die Aktivität signifikant um knapp 40% höher als bei [CO₂]₃₈₀ und steigerte sich gegenüber der Kontrolle₅₂₀ um das 1,6fache.

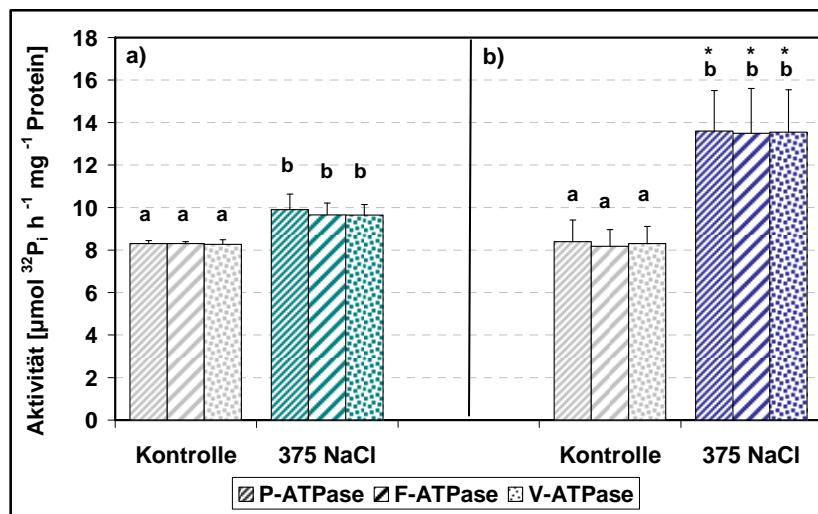


Abb. 35. P-ATPase-, F-ATPase- und V-ATPase-Aktivitäten der Kontrollen und der 375 NaCl-Varianten. a) [CO₂]₃₈₀; b) [CO₂]₅₂₀.

3.15 Strukturanalytik

3.15.1 Blattanatomie

In diesem Kapitel werden die Daten der Sommerkulturen dargestellt. Bei den Winterkulturen gab es vergleichbare salzbedingte Trends, die Blätter waren aber insgesamt etwas dünner und reicher an Interzellularen (s. Anhang 2, Abb. A2.19-A2.21).

Kontrollen

Es handelte sich um bifaciale Flachblätter mit einem adaxialen, einschichtigen, z.T. auch zweischichtigen Palisadenparenchym (PP) und einem abaxialen Schwammparenchym (SP) (Abb. 36a). Das Palisadenparenchym wies verhältnismäßig viele Interzellularräume auf. Einige Blätter besaßen zwischen Palisaden- und Schwammparenchym auf der Höhe der Leitbündel ein zentral gelegenes Gewebe, das besonders wenige Interzellularen aufwies, dessen Zellen Chloroplasten enthielten und von der Form her weitgehend dem Schwammparenchym entsprachen. Dieses Gewebe konnte weder dem Palisaden- noch dem Schwammparenchym eindeutig zugeordnet werden und wird von nun an als zentrales Parenchym (zP) bezeichnet (Abb. 37a).

Die amphistomatischen Blätter wiesen Stomata vom Helleborus-Typ auf (Abb. 46; s. auch Anhang 1, Abb. A1.25). Bei den Leitbündeln handelte es sich um den für Dicotyledonen typischen offen kollateralen Typ (s. Anhang 1, Abb. A1.26).

Salzvarianten

Die vertikale Ausdehnung der Blätter im Querschnitt nahm mit steigender Salinität signifikant zu; z.T. waren die Blätter der Hochsalzvarianten doppelt so dick wie die der Kontrollen (Abb. 36, 38a). Dies war v.a. auf Änderungen im Mesophyll zurückzuführen: Das Palisadenparenchym wurde zwei- bis dreischichtig, und das zentrale Parenchym war in der Mehrzahl der Blätter und z.T. in größerem Umfang entwickelt. Die vertikale Ausdehnung der Zellen in allen drei Parenchymgeweben nahm signifikant zu; besonders ausgeprägt war dieser Effekt im Palisadenparenchym, wo manche Zellen die doppelte Länge erreichten wie die der Kontrollen (Abb. 39a). Somit stieg auch die Dicke des Palisadenparenchyms sowie des zentralen Parenchyms/Schwammparenchyms bei NaCl-Salinität signifikant an. Da das zentrale Parenchym in

den verschiedenen Blättern sehr unterschiedlich entwickelt war, wurde es in Abb. 38 mit dem Schwammparenchym zusammengefaßt. Die Dicke der Epidermis änderte sich nicht signifikant, sie nahm aber bei Hochsalz tendenziell um 20-30% zu. Die Zellen des Palisadenparenchyms und des zentralen Parenchyms waren unter salinen Bedingungen auch in horizontaler Richtung signifikant stärker ausgedehnt (Abb. 39c), jedoch in deutlich geringerem Maße als in vertikaler Richtung. Parallel mit zunehmender Blattdicke und Zellgröße verringerte sich der Interzellularenanteil in allen drei Mesophyllgeweben signifikant, wobei die Reduktion im Palisadenparenchym und im zentralen Parenchym mit ca. 60% deutlich höher ausfiel als im Schwammparenchym (34%) (Abb. 40a).

In den Leitbündeln wiesen die Tracheen des Metaxylems einen tendenziell größeren Durchmesser auf als diejenigen der Kontrollen (s. Anhang, Abb. A1.27).

Erhöhte atmosphärische CO₂-Konzentration hatte nur wenige, im Querschnittsbild kaum auffallende Effekte auf die Blattanatomie. Daher wird in den Abb. 36 und 37 nicht zwischen den beiden CO₂-Varianten unterschieden. Einen signifikanten Effekt hatte erhöhtes CO₂ auf die untere Epidermis, deren Dicke bei den Kontrollen signifikant zunahm (Abb. 38b). Auch waren die Mesophyllzellen bei [CO₂]₅₂₀ vielfach größer als bei [CO₂]₃₈₀: Die vertikale Zellausdehnung war bei den Kontrollen₅₂₀ und den Salzvarianten₅₂₀ in allen Mesophyllgeweben signifikant höher als unter natürlich atmosphärischer CO₂-Konzentration (einzige Ausnahme: zentrales Parenchym der Kontrolle), ebenso die horizontale Zellausdehnung der Kontrollen₅₂₀ (Abb. 39b, d). Dies hatte jedoch nur bei den Kontrollen₅₂₀ einen leichten, tendenziellen Einfluß auf die Dicke des Palisadenparenchyms und damit auf die Gesamtdicke der Blätter (Abb. 38b).

Innerhalb der Leitbündel wiesen die Gefäße unter erhöhtem CO₂ tendenziell einen größeren Durchmesser auf als unter natürlich atmosphärischer CO₂-Konzentration (s. Anhang 1, Abb. A1.27b).

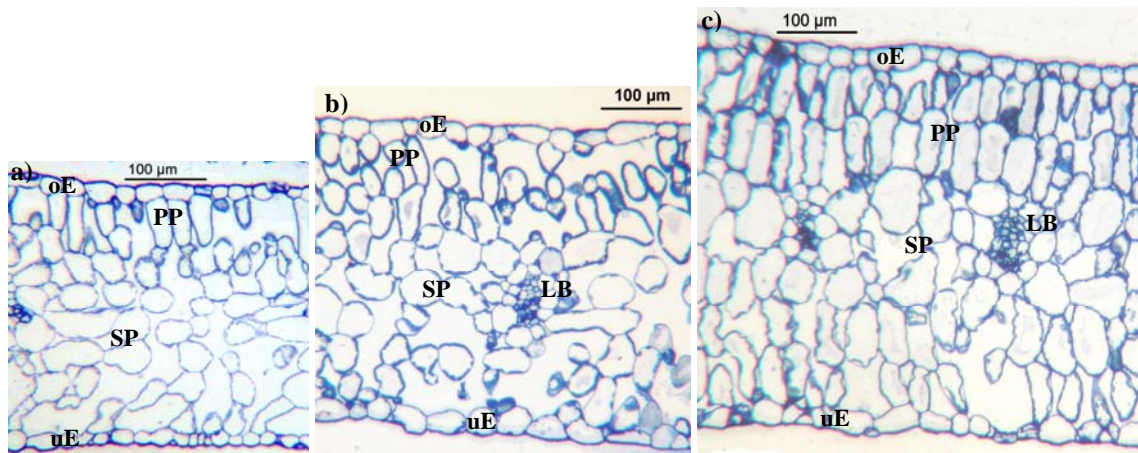


Abb. 36. Blattquerschnitte bei verschiedenen Salinitäten ohne zentrales Parenchym (LM-Aufnahmen).
a) Kontrolle; b) 250 NaCl; c) 375 NaCl. oE = obere Epidermis; PP = Palisadenparenchym;
SP = Schwammparenchym; uE = untere Epidermis; LB = Leitbündel.

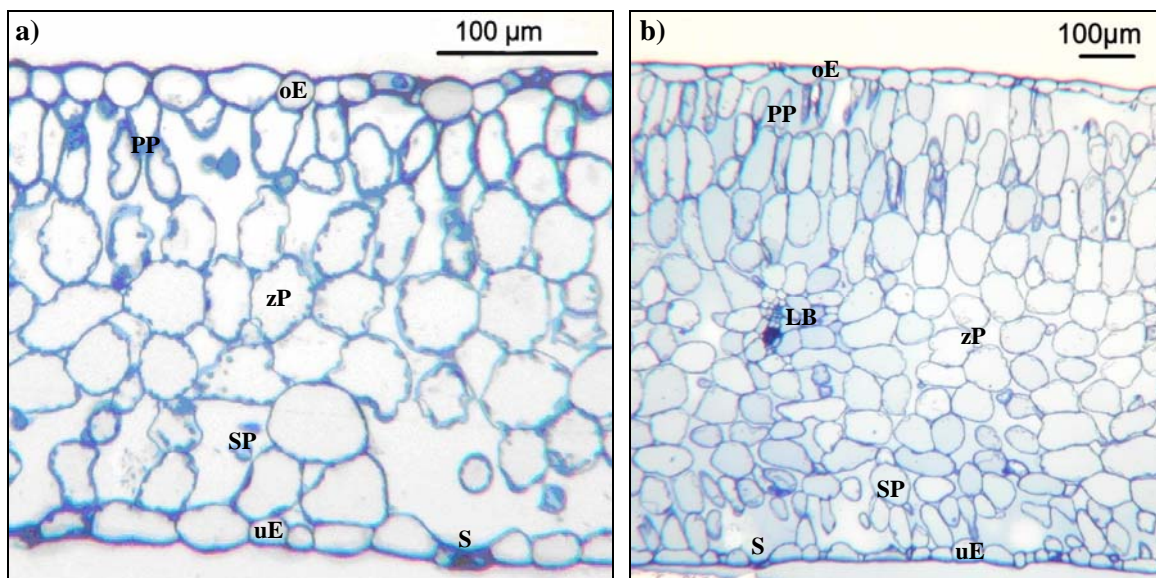


Abb. 37. Blattquerschnitte mit zentralem Parenchym (LM-Aufnahmen). a) Kontrolle; b) 375 NaCl-
Variante mit extrem stark ausgebildetem zentralem Parenchym. oE = obere Epidermis;
PP = Palisadenparenchym; zP = zentrales Parenchym; SP = Schwammparenchym;
uE = untere Epidermis; LB = Leitbündel; S = Stoma.

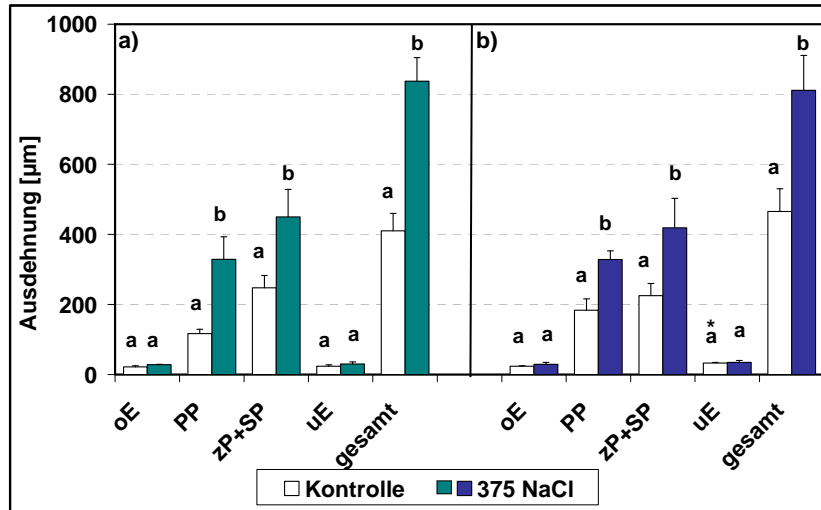


Abb. 38. Vertikale Ausdehnung der einzelnen Blattgewebe und des gesamten Blattes im Querschnitt bei den Kontrollen und bei 375 NaCl. a) [CO₂]₃₈₀; b) [CO₂]₅₂₀. oE = obere Epidermis; PP = Palisadenparenchym; zP = zentrales Parenchym; SP = Schwammparenchym; uE = untere Epidermis.

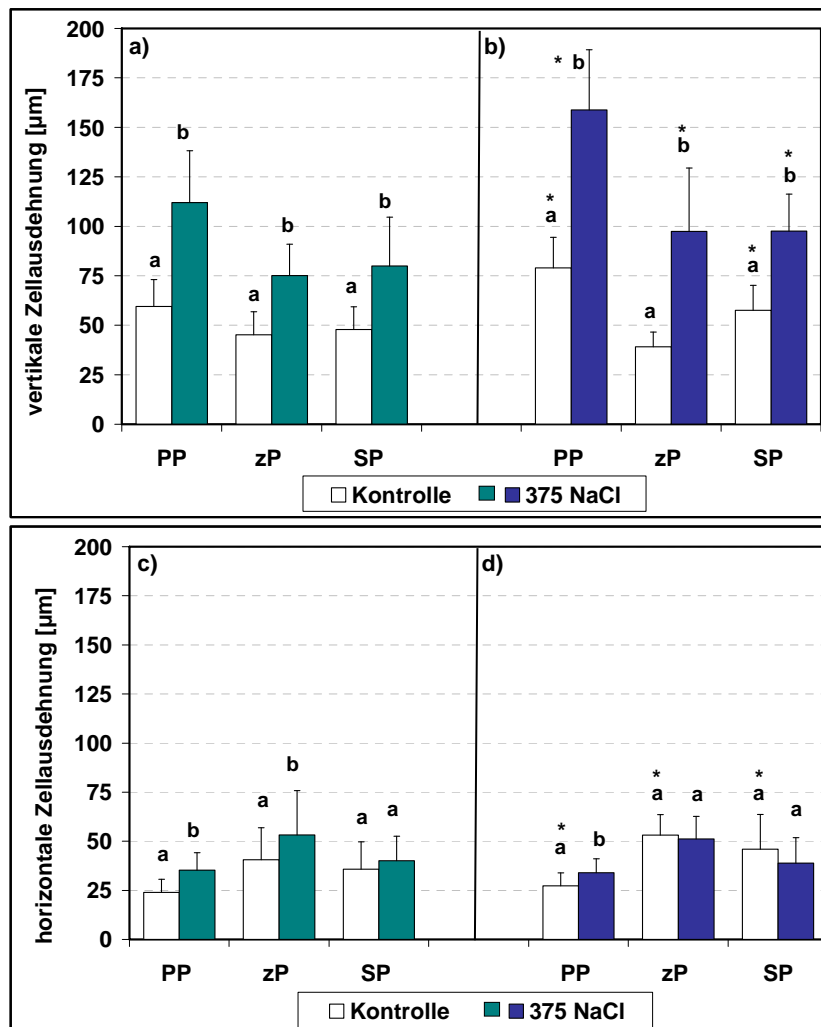


Abb. 39. Zellausdehnung bei den Kontrollen und bei 375 NaCl. a), b) vertikale Ausdehnung; c), d) horizontale Ausdehnung; a), c) [CO₂]₃₈₀; b), d) [CO₂]₅₂₀. PP = Palisadenparenchym; zP = zentrales Parenchym; SP = Schwammparenchym.

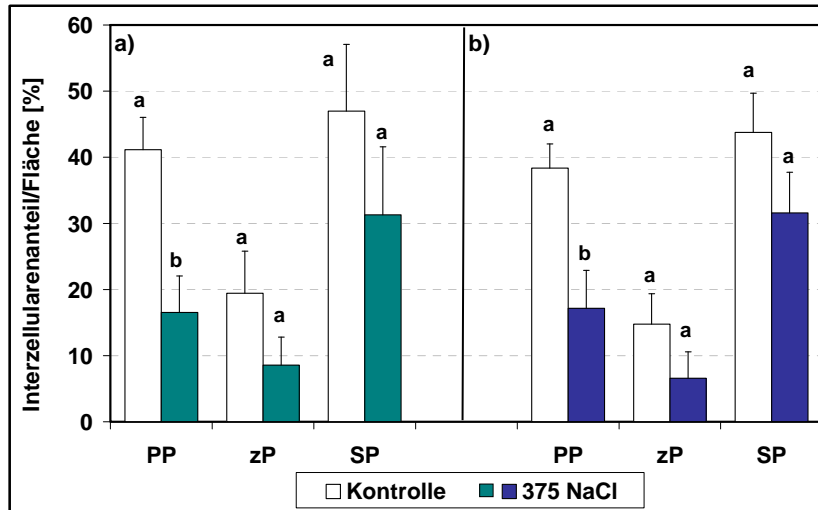


Abb. 40. Prozentualer Interzellularenanteil pro Fläche bei den Kontrollen und bei 375 NaCl.
a) [CO₂]₃₈₀; b) [CO₂]₅₂₀. PP = Palisadenparenchym; zP = mittleres Parenchym;
SP = Schwammparenchym.

3.15.2 „Leaf Mass to Area Ratio“ (LMA)

Unter natürlich atmosphärischer CO₂-Konzentration war die „leaf mass to area ratio“ bei den adulten Blättern höher als bei den juvenilen (Abb. 41a). Zunehmende Salinität hatte einen kontinuierlichen, signifikanten Anstieg der LMA um 55% bei den adulten Blättern und um 93% bei den juvenilen Blättern zur Folge. Bis auf das juvenile Blatt bei 250 NaCl₅₂₀ (signifikant höhere LMA) gab es keinen signifikanten Einfluß von erhöhtem CO₂ auf die LMA (Abb. 41b).

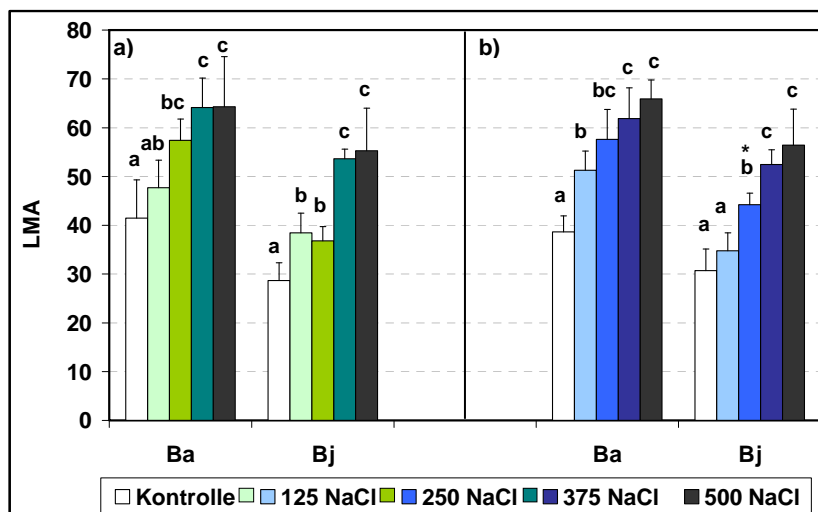


Abb. 41. „Leaf mass to area ratio“ bei verschiedenen Salinitäten. a) [CO₂]₃₈₀; b) [CO₂]₅₂₀.

3.15.3 Ultrastruktur der Blätter

Zur Untersuchung im Transmissionselektronenmikroskop dienten nur Proben der Sommerkulturen. Ausgehend von den lichtmikroskopisch beobachteten Veränderungen wurden Zellen des Palisaden- und Schwammparenchyms, aber auch der Epidermis, untersucht. Auf die Darstellung des Schwammparenchyms wird hier verzichtet, da es unabhängig von den Kulturbedingungen keine signifikanten Unterschiede in der Ultrastruktur zwischen Palisaden- und Schwammparenchymzellen gab.

Obere Epidermis

Die Epidermiszellen der Kontrollen₃₈₀ waren generell durch eine große Zentralvakuole ohne erkennbare Einschlüsse oder kristalline Strukturen gekennzeichnet (Abb. 42). Im Cytoplasma waren bis auf gelegentlich angeschnittene Zellkerne nur sehr wenige Zellorganellen zu finden. Abb. 42 zeigt exemplarisch nur eine Epidermiszelle der [CO₂]₃₈₀-Variante, da sich die Zellen der verschiedenen Salz- und CO₂-Ansätze nur hinsichtlich der äußeren Zellwände und der Cuticula voneinander unterschieden (s.u.), was auf den Übersichtsaufnahmen jedoch kaum erkennbar ist.

Die äußere Zellwand war mit ca. 1,6 µm Durchmesser sehr viel dicker als die inneren und die radialen Wände (Abb. 42). Die Wandstruktur ließ eine Längsstreifung durch parallel angeordnete Mikrofibrillen erkennen (Abb. 44). Die Elektronendichte der Außenwand war sowohl bei Salinität als auch unter erhöhter CO₂-Konzentration erhöht und nahm generell von innen nach außen zu. Der letztgenannte Effekt wurde sowohl durch Salinität als auch durch Hochsalz verstärkt; bei den Salzvarianten unter erhöhtem CO₂ erschien die Zellwand zweischichtig: Sie ließ eine innere dünne und helle sowie eine äußere dickere und dunkle Schicht erkennen. Auch die Dicke der äußeren Epidermiswand wurde deutlich durch NaCl-Salinität und CO₂ beeinflusst (Abb. 43, 44): Die Wand wurde bei Salinität tendenziell dicker (Faktor 1,4 bei [CO₂]₃₈₀). Erhöhtes CO₂ bewirkte bei den Kontrollen eine tendenzielle und bei den Salzvarianten eine signifikante Zunahme der Wanddicke gegenüber [CO₂]₃₈₀. Unter erhöhter CO₂-Konzentration war die Wand bei Hochsalz sogar doppelt so dick wie die der Kontrolle, was einen signifikanten Unterschied bedeutet.

Die Dicke der Cuticula erhöhte sich bei Salinität signifikant (Abb. 43, 44). Erhöhtes CO₂ führte bei den besalzenen Pflanzen zu einer signifikanten Zunahme der Cuticuladicke um fast 100% gegenüber [CO₂]₃₈₀.

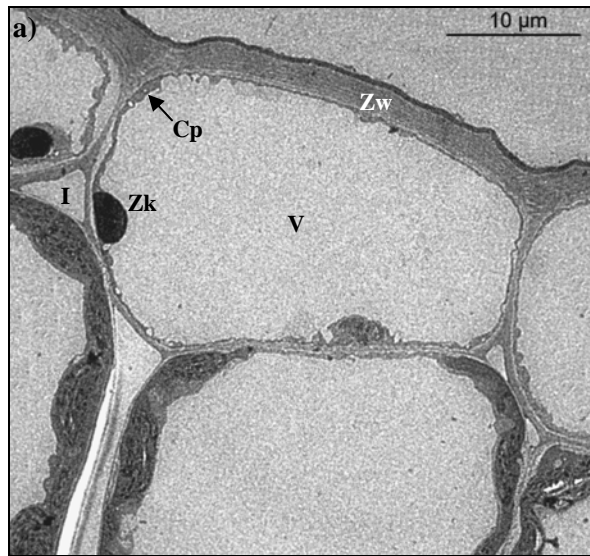


Abb. 42. Zelle der oberen Epidermis einer Kontrollvariante bei $[\text{CO}_2]_{380}$ (TEM-Aufnahme).
V = Vakuole; Zw = Zellwand; Zk = Zellkern; Cp = Cytoplasma; I = Interzellularraum.

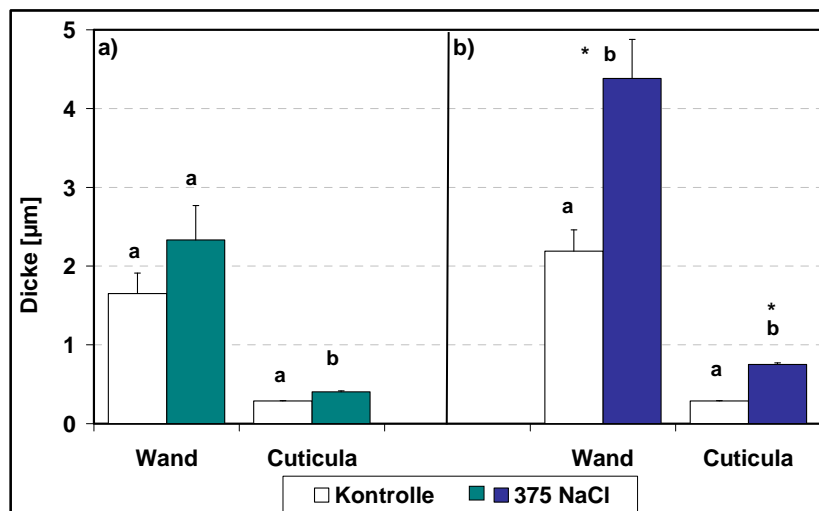


Abb. 43. Dicke der oberen Epidermisaußenwand und der oberen Cuticula bei den Kontrollen und bei 375 NaCl. a) $[\text{CO}_2]_{380}$; b) $[\text{CO}_2]_{520}$.

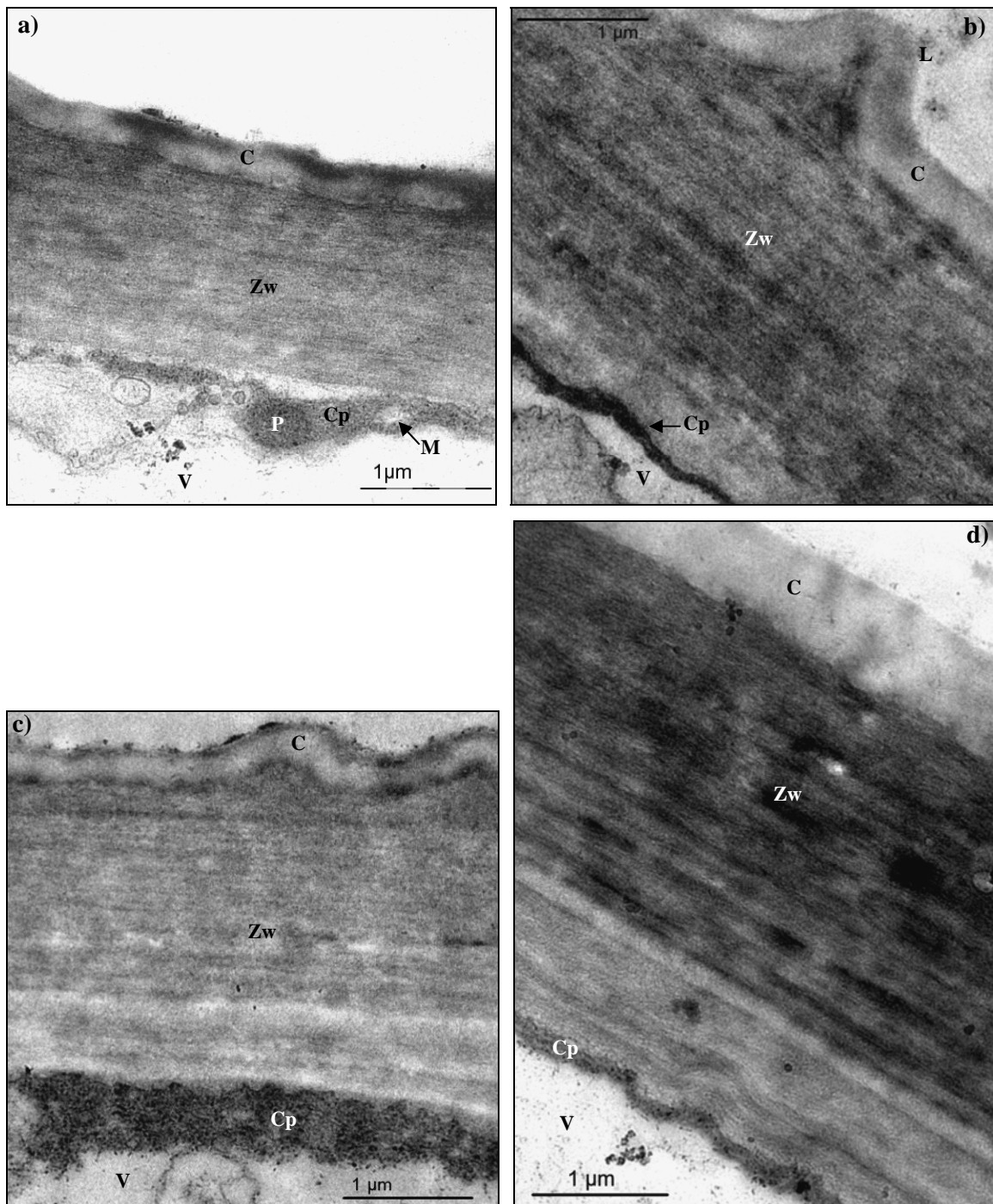


Abb. 44. Äußere Zellwand der oberen Epidermis mit Cuticula (TEM-Aufnahmen).
a) Kontrolle₃₈₀; b) 375 NaCl₃₈₀; c) Kontrolle₅₂₀; d) 375 NaCl₅₂₀. Zw = Zellwand; C = Cuticula;
Cp = Cytoplasma; M = Mitochondrium; P = Plastid; V = Vakuole; L = Laminarleiste.

Auch die Oberflächenstruktur der oberen Epidermis wurde durch Salinität beeinflusst (Abb. 45): Die Epidermiszellen der Kontrollen₃₈₀ hatten puzzleteilähnliche Umrisse und waren turgorbedingt kissenartig nach außen gewölbt. Auf einigen Zellen, v.a. auf solchen, die an die Stomata angrenzen, befanden sich schmale, meist parallel zur Längsachse der Zellen verlaufende Laminarleisten (Abb. 45a). Bei Hochsalz wiesen die Umrisse der Epidermiszellen weniger Ausbuchtungen auf; die Zellen erschienen außerdem weniger turgeszent und waren weniger stark nach außen gewölbt (Abb. 45b). Auf fast allen Zellen fanden sich Laminarleisten, die jedoch breiter und flacher und damit weniger klar gegeneinander und gegen die übrige Zelloberfläche abgegrenzt waren. Sehr selten traten Haare in der Epidermis auf (s. Anhang, Abb. A1.28).

Erhöhtes CO₂ hatte keinen Einfluß auf die Oberflächenstruktur der Epidermis.

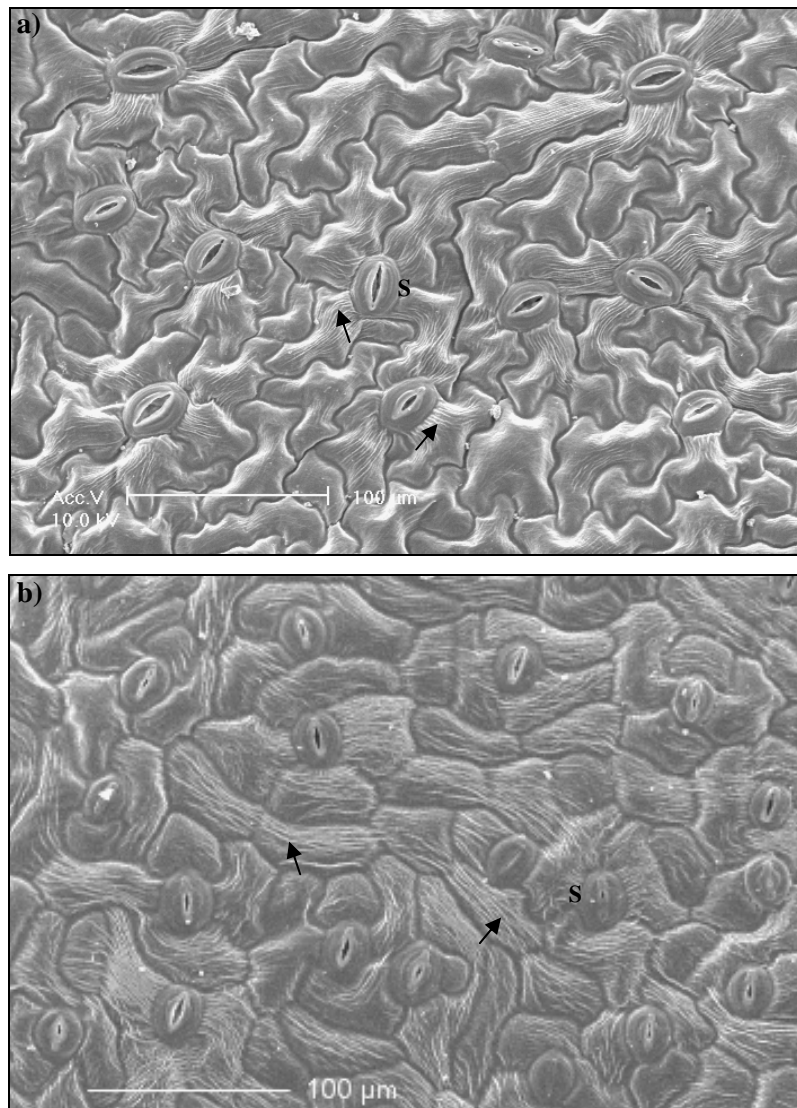


Abb. 45. Obere Epidermis (REM-Aufnahmen). a) Kontrolle; b) 375 NaCl. S = Stoma; die Pfeile zeigen auf Laminarleisten.

Palisadenparenchym

Wie die Epidermiszellen waren auch die Palisadenparenchymzellen der Kontrollen₃₈₀ generell durch eine große Zentralvakuole ohne erkennbare Einschlüsse oder kristalline Strukturen gekennzeichnet (Abb. 46a). Das Cytoplasma schloß zahlreiche Zellorganellen ein.

Die Anzahl der Chloroplasten, Mitochondrien und Vesikel pro Fläche im Palisadenparenchym wurde durch Salinität und CO₂ folgendermaßen beeinflusst: NaCl-Salinität bewirkte eine signifikante Abnahme der Chloroplastenzahl auf ca. die Hälfte, während die Zahl der Mitochondrien und Vesikel signifikant um ca. 50% bzw. 150% zunahm (Abb. 49a). Dies spiegelt z.T. auch Abb. 47b wider: Bei Hochsalz gab es auffallend viele Bereiche im Cytoplasma, wo sich keine Chloroplasten befanden (s. auch Pfeil, Abb. 46b). Dafür gab es in diesen Bereichen häufig große Mengen von Vesikeln, die z.T. mit dem Plasmalemma verschmolzen waren.

Unter erhöhter CO₂-Konzentration war die Anzahl der Chloroplasten sowohl bei den Kontrollen als auch bei den besalzenen Pflanzen signifikant geringer als unter natürlich atmosphärischen Bedingungen (Abb. 49b). Dagegen nahm die Mitochondrienzahl bei den Kontrollen₅₂₀ signifikant zu und erreichte einen ähnlichen Wert wie bei den Salzvarianten₃₈₀. Bei Hochsalz dagegen zeigte sie unter [CO₂]₅₂₀ keine Veränderung. Die Anzahl der Vesikel war unter erhöhtem CO₂ bei den Salzvarianten signifikant niedriger als unter [CO₂]₃₈₀.

Die Struktur der Mitochondrien, welche die charakteristische Doppelmembran erkennen ließen, wurde durch Salinität nicht beeinflusst (Abb. 48); jedoch war die Elektronen- bzw. Proteindichte in den Membranen unter Hochsalz erhöht. Die Ultrastruktur der Mitochondrien wurde durch erhöhtes CO₂ nicht beeinflusst.

Die Zellwände von Kontrollen und Salzvarianten bildeten an manchen Stellen kleine Protuberanzen nach innen (s. Anhang 1, Abb. A1.29).

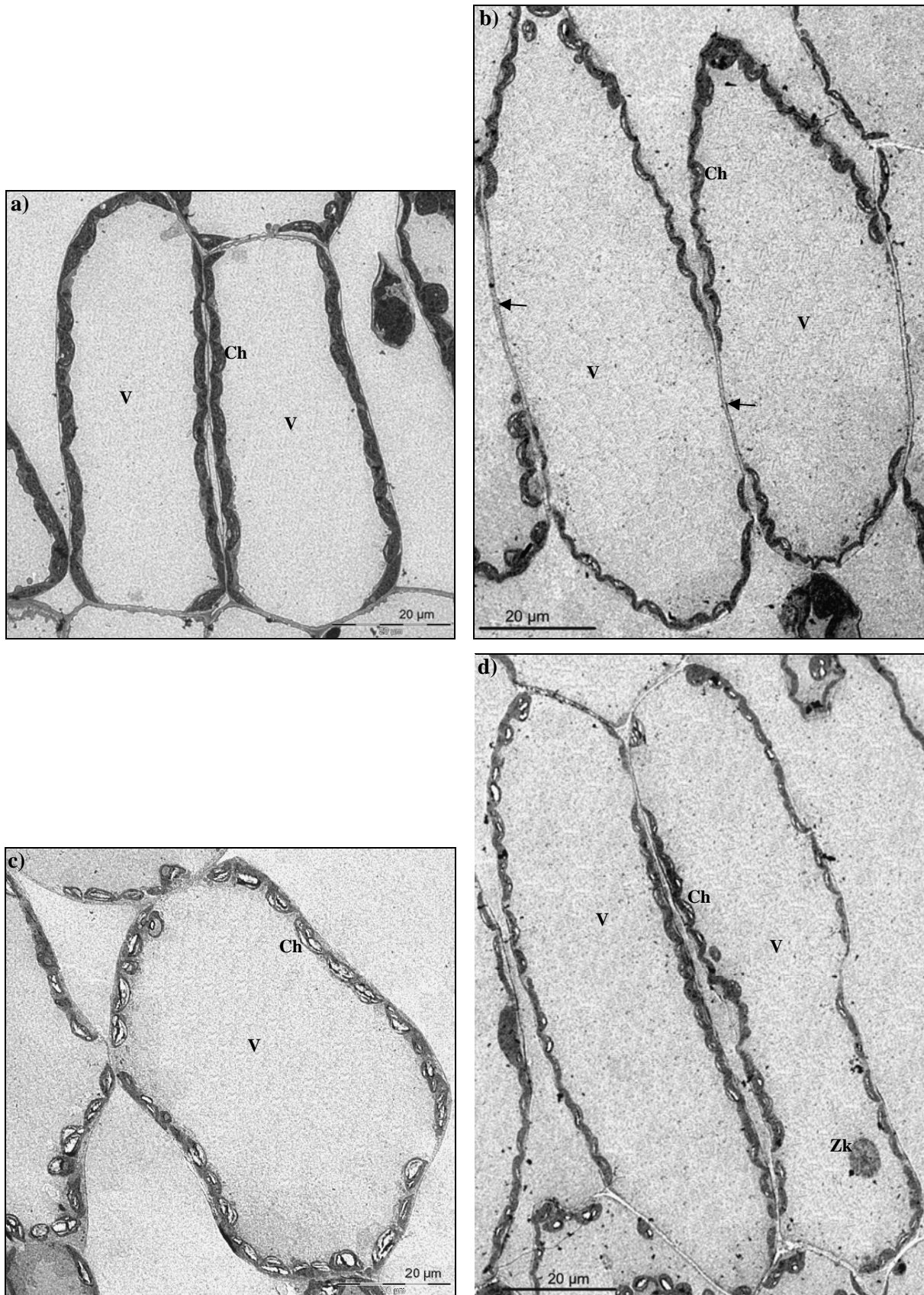


Abb. 46. Zellen des Palisadenparenchyms (TEM-Aufnahmen). a) Kontrolle₃₈₀; b) 375 NaCl₃₈₀; c) Kontrolle₅₂₀; d) 375 NaCl₅₂₀. V = Vakuole; Ch = Chloroplast; Zk = Zellkern. Die Pfeile in Abb. 47b zeigen auf Cytoplasmabereiche ohne Chloroplasten. Die bauchige Zellform in Abb. 47c ist nicht generell charakteristisch für diesen Ansatz. Dieses Foto wurde ausgewählt, da es besonders gut die typische Chloroplastenform (einschließlich der zahlreichen großen Stärkekörner) der Kontrollen₅₂₀ zeigt.

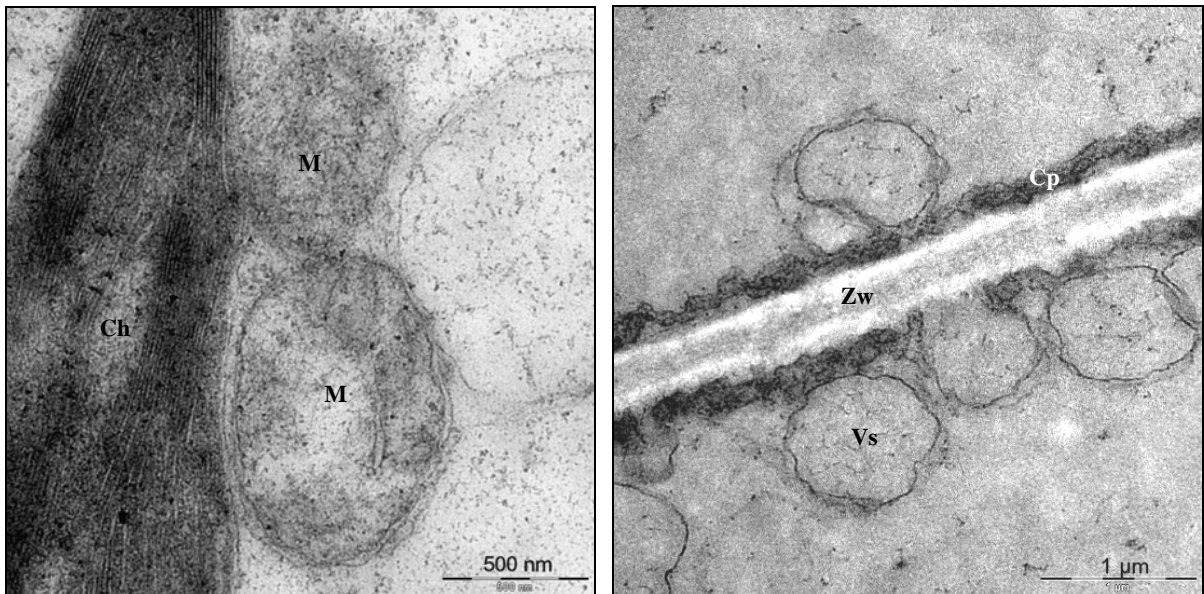


Abb. 47. Vesikel im Palisadenparenchym (TEM-Aufnahmen). a) Kontrolle; nur vereinzelte Vesikel zu finden. Bei dem hier dargestellten Vesikel könnte es sich möglicherweise um ein Peroxisom handeln, da es sich in Nachbarschaft zu einem Chloroplasten und Mitochondrien befindet (Hinweis auf Photorespiration). b) 375 NaCl; zahlreiche Vesikel zu finden. Vs = Vesikel; Zw = Zellwand; Cp = Cytoplasma; Ch = Chloroplast; M = Mitochondrium.

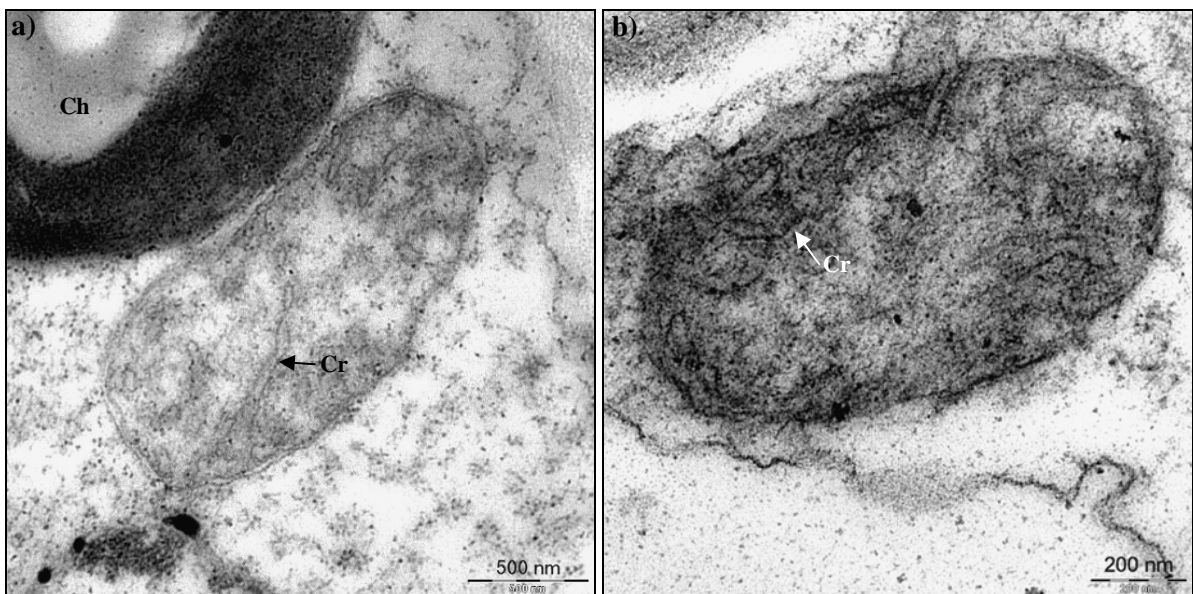


Abb. 48. Mitochondrien (TEM-Aufnahmen). a) Kontrolle; b) 375 NaCl.
Cr = Cristae; Ch = Chloroplast.

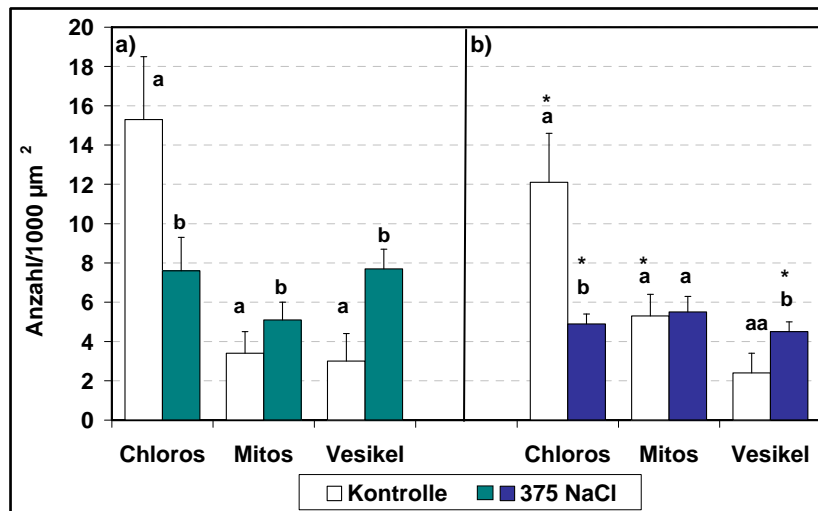


Abb. 49. Anzahl verschiedener Zellorganellen pro Fläche bei den Kontrollen und bei 375 NaCl.
a) [CO₂]₃₈₀; b) [CO₂]₅₂₀. Chloros=Chloroplasten; Mitos=Mitochondrien.

Chloroplasten

Die Chloroplasten der Kontrollen₃₈₀ waren mehr oder weniger oval geformt und enthielten verhältnismäßig wenige und kleine Stärkekörner (Abb. 46, 50). Bei den Salzvarianten dagegen war deutlich mehr Stärke vorhanden.

Unter erhöhtem CO₂ enthielten die Kontrollen sehr viele und große Stärkekörner, die oft den Großteil des Plastids einnahmen. In den Salzvarianten fand sich weniger Stärke als in den Kontrollen. Extrem stärkehaltige Chloroplasten veränderten aufgrund der Stärkekörner ihre Form: Sie waren runder oder wiesen seitliche Ausbuchtungen auf.

Die Thylakoidmembranen der Kontrollen₃₈₀ waren deutlich in parallel angeordnete Granastapel und in - die Granathylakoide verbindende - Stromathylakoide differenziert (Abb. 51). Bei NaCl-Salinität wiesen die Chloroplasten teilweise eine Sichelform auf (Abb. 50b, Pfeil), und es kam zu Aufblähungen der Thylakoidmembranen. Die Thylakoidzwischenräume erschienen gequollen und weniger elektronendicht, und es entstanden wellige Thylakoidbereiche. Insbesondere die Anzahl der Granastapel nahm durch Salinität deutlich ab. Im Extremfall wiesen die Chloroplasten mehrfache Deformationen auf und zeigten das Gesamtbild offenbar funktionsuntüchtiger Plastiden. Die Abb. 52a-d zeigen eine Reihe von Chloroplasten mit fortschreitender Schädigung des Membransystems.

Zwischen den CO₂-Ansätzen gab es keine grundsätzlichen Unterschiede in der Chloroplastenstruktur. In den Salzvarianten₅₂₀ fand sich allerdings ein größerer Anteil fast intakter Chloroplasten mit nur geringen Aufblähungen der Thylakoidmembranen (Abb. 53).

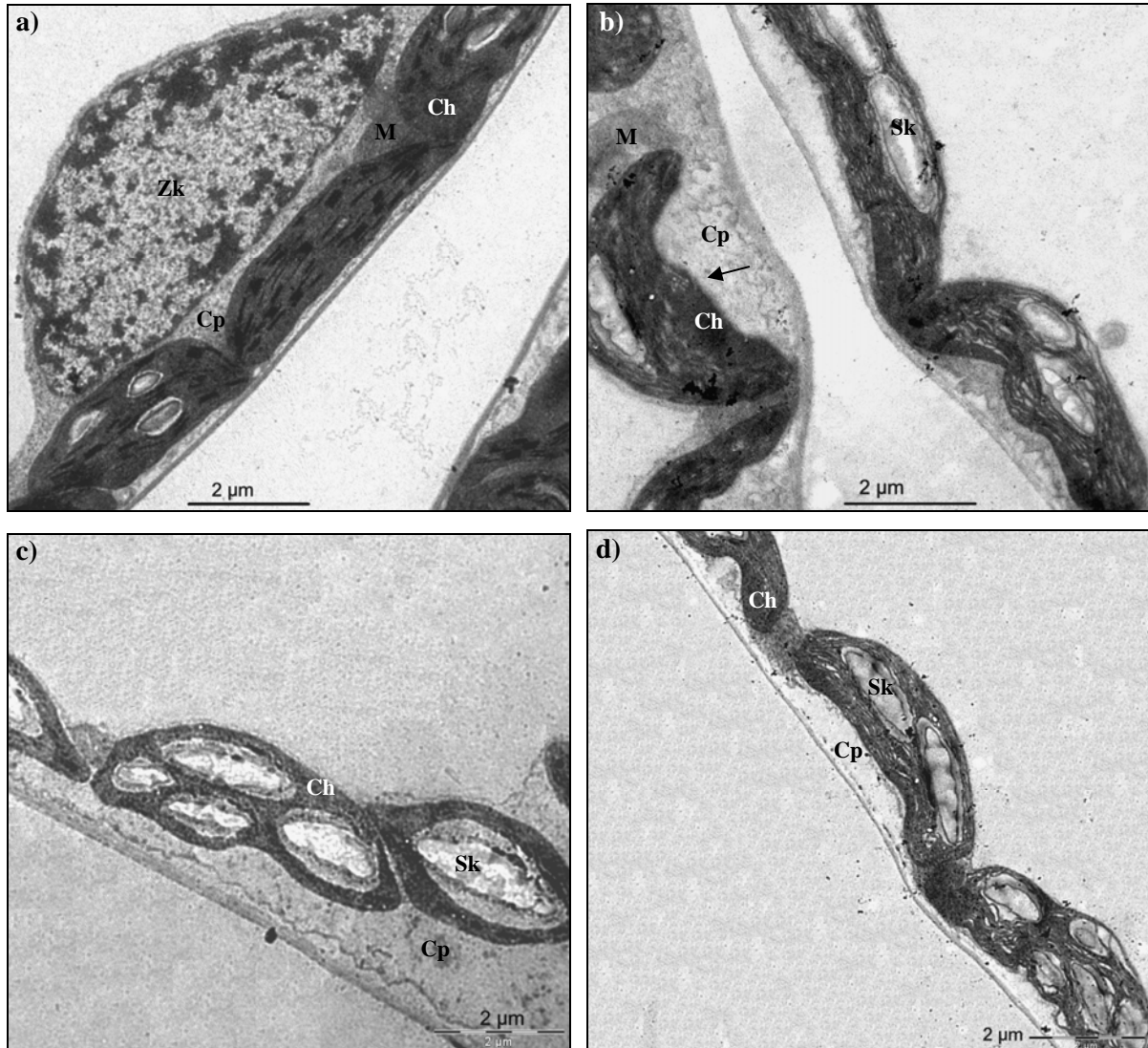


Abb. 50. Chloroplasten im Palisadenparenchym (TEM-Aufnahmen). a) Kontrolle₃₈₀; b) 375 NaCl₃₈₀; c) Kontrolle₅₂₀; d) 375 NaCl₅₂₀. Ch = Chloroplast; Sk = Stärkekorn; Zk = Zellkern; M = Mitochondrium; Cp = Cytoplasma. Der Pfeil zeigt auf sichelförmigen Chloroplasten.

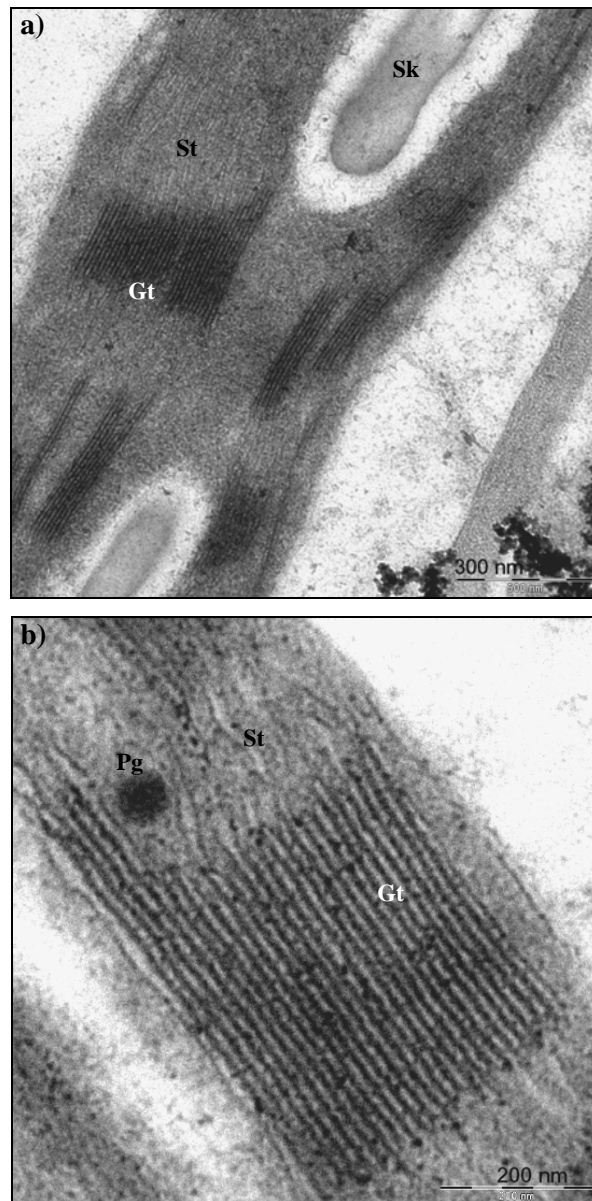


Abb. 51. Chloroplasten der Kontrollen (TEM-Aufnahmen). a) Übersicht über die Thylakoidmembranen; b) Granathylakoide bei höherer Vergrößerung. Gt = Granathylakoide; St = Stromathylakoide; Sk = Stärkekorn; Pg = Plastoglobulus.

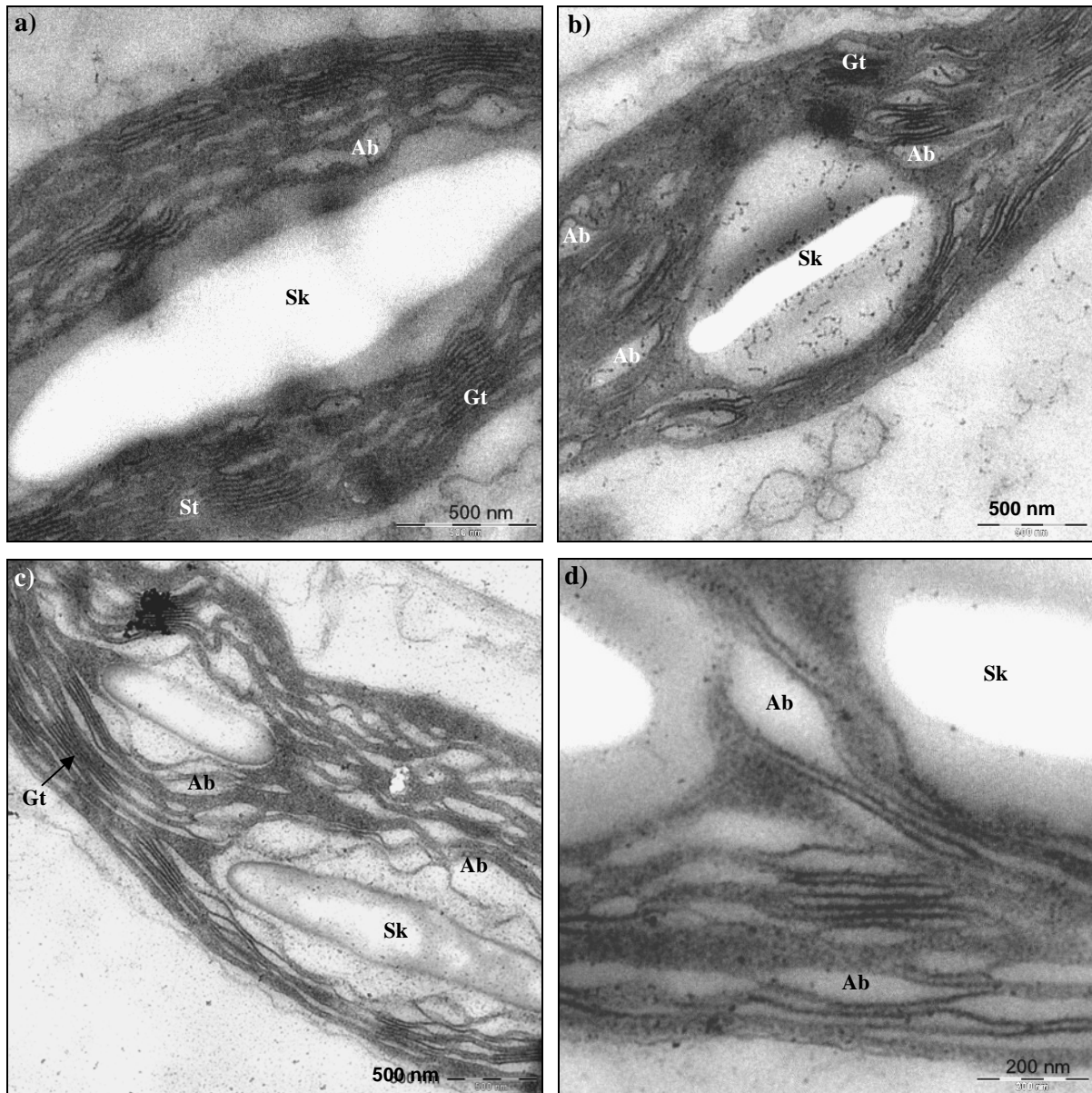


Abb. 52. Chloroplasten der Salzvarianten (TEM-Aufnahmen). Von a) nach c) zunehmende Schädigung des Membransystems; d) aufgeblähte Membranen bei höherer Vergrößerung. Gt = Granathylakoide; St = Stromathylakoide; Ab = Aufblähungen der Thylakoidmembranen; Sk = Stärkekorn.

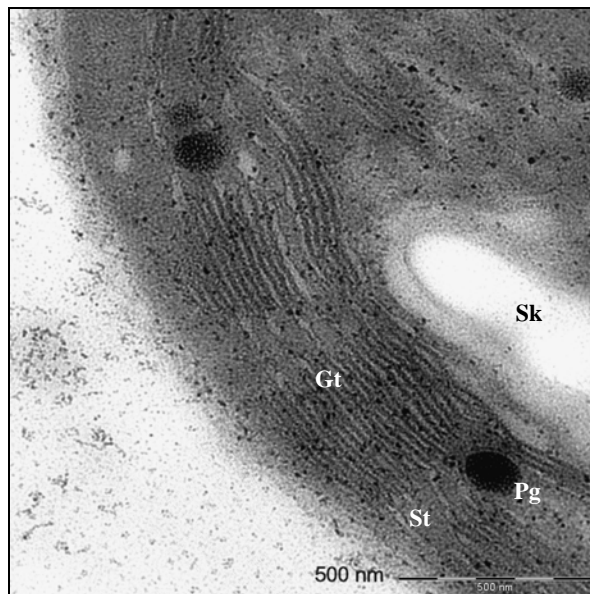


Abb. 53. Wenig geschädigter Chloroplast bei 375 NaCl unter erhöhtem CO₂ (TEM-Aufnahme). Es sind Bereiche mit noch fast intakten Thylakoidmembranen vorhanden. Gt = Granathylakoide; St = Stromathylakoide; Sk = Stärkekorn; Pg = Plastoglobulus.

Leitbündel

Die Ultrastruktur der Leitbündel wurde durch Salinität und erhöhtes CO₂ nicht wesentlich beeinflusst und wird daher nicht im Detail dargestellt. Die einzige auffällige Änderung bei NaCl-Salinität war eine zunehmende Vesikelbildung in den Siebröhren des Phloems (Abb. 54).

In den Leitbündeln beider CO₂-Varianten fiel zudem eine generelle Besonderheit auf: Im Phloem fanden sich sowohl bei den Kontrollen als auch bei den besalzenen Pflanzen zahlreiche Transferzellen mit Zellwandprotuberanzen (Abb. 55). Juvenile Transferzellen waren nicht vakuolisiert und enthielten häufig Proplastiden (Abb. 55a). Im ausdifferenzierten Zustand trat eine Vakuolisierung ein (Abb. 55b). Außerdem waren in einigen dieser Zellen ausdifferenzierte Plastiden vorhanden, die z.T. Stärkekörner enthielten. Generell wiesen die Transferzellen eine große Anzahl von Mitochondrien auf. Die Transferzellen der Kontrollen und der besalzenen Pflanzen unterschieden sich nicht wesentlich voneinander.

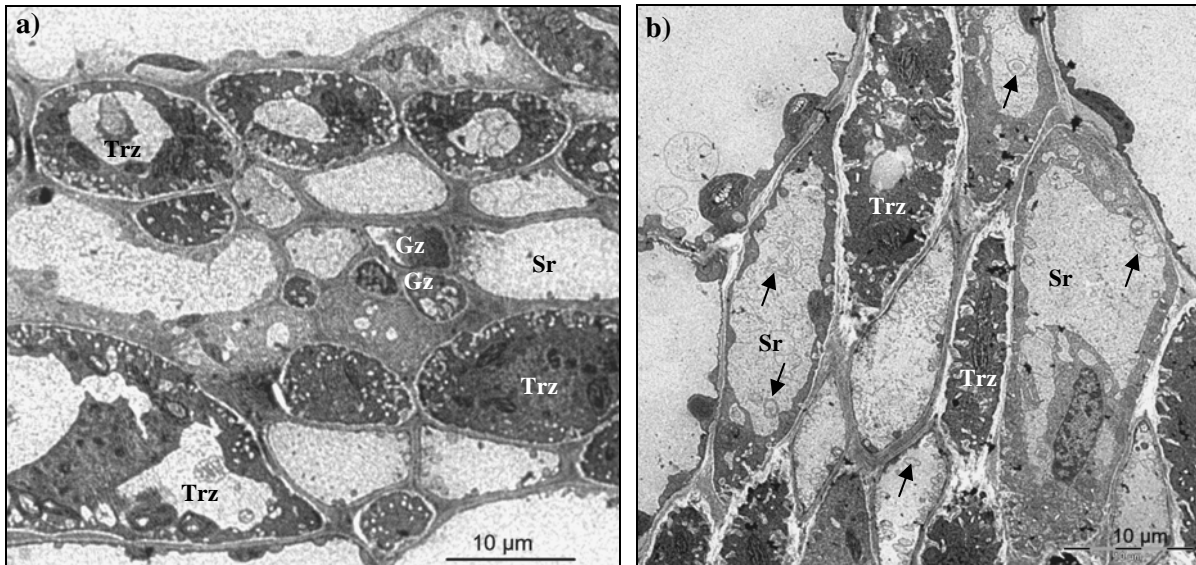


Abb. 54. Ausschnitt aus dem Phloembereich eines Leitbündels (TEM-Aufnahmen).
a) Kontrolle; b) 375 NaCl. Trz = Transferzelle; Sr = Siebröhre; Gz = Geleitzelle.
Die Pfeile zeigen auf die bei Salinität vermehrt vorhandenen Vesikel.

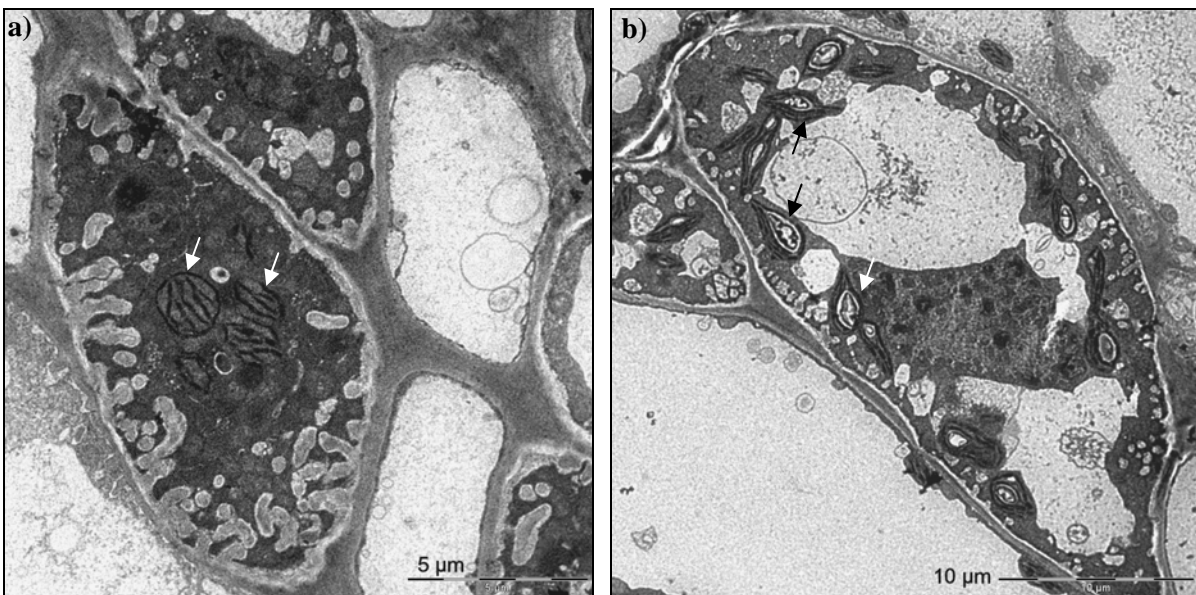


Abb. 55. Transferzellen der Kontrollen (TEM-Aufnahmen). a) junge Zelle mit Proplastiden (Pfeile);
b) weiter ausdifferenzierte Zelle mit stärkehaltigen Chloroplasten (Pfeile).

4 DISKUSSION

Während der ersten Stunden oder Tage nach dem Einsetzen von Salzstreß wirken laut Munns (1993; 2002a) in erster Linie osmotische Effekte auf die Pflanze. Hinsichtlich dieses wachstumsbegrenzenden Faktors lassen die Ergebnisse der vorliegenden Studie folgende Schlußfolgerungen zu: Erwartungsgemäß (s. Kap. 1) und in Übereinstimmung mit anderen Halophyten (Ben Amor et al., 2005; Debez et al., 2006; Koyro et al., 2006) nahmen das Wasserpotential der Blätter und das osmotische Potential in allen Organen von *Aster tripolium* mit zunehmendem Salzgehalt kontinuierlich ab (Kap. 3.2, 3.5). Die Tatsache, daß das Blatt-Wasserpotential bei allen Salinitätsstufen deutlich niedrigere Werte annahm als dasjenige des Außenmediums, spricht dafür, daß die osmotische Adaptation ausreichend war, um auch bei Hochsalz genügend Wasser aufzunehmen und eine positive Wasserbilanz aufrechtzuerhalten. Allerdings ist nicht auszuschließen, daß z.B. hohe Transportwiderstände den Wassertransport durch die Pflanze erschweren und die extreme Absenkung des Wasserpotentials bei Hochsalz ein Anzeichen für Dehydrierung darstellt, wofür auch die Abnahme des Blattgewebe-Turgors der Hochsalzvarianten spricht (s. Kap. 3.15.3, Abb. 45). Um weitergehende Informationen zum Wasserhaushalt zu erhalten, sollte auch das Wasserpotential der anderen Pflanzenorgane bestimmt werden; so könnte man überprüfen, ob ein kontinuierlicher Wassertransport durch die Pflanze gewährleistet ist. Zudem wären Einzelzelluntersuchungen zu Turgor, Elastizitätsmodul oder hydraulischer Leitfähigkeit in allen Organen wünschenswert. In Übereinstimmung mit Literaturangaben (Shennan et al., 1987b; Huiskes, 1994, 1996a; Matsumura et al., 1998a; Ueda et al., 2003) erfolgte die osmotische Adaptation in erster Linie durch die Akkumulation von Na^+ und Cl^- (Kap. 3.11). Dies bestätigt, daß es sich bei der Strandaster - bezogen auf die Gesamtpflanze – um einen Inkluder handelt, bei dem die NaCl-Anreicherung Wasser- und Nährstoffversorgung und somit Turgorerhalt und Wachstum sicherstellt (Ben Amor et al., 2005; Rodríguez et al., 2005). Durch diese Strategie spart *A. tripolium*, verglichen mit Exkludern, wertvolle Energie, denn bei der Synthese kompatibler Substanzen und der aktiven Aufnahme von Nährsalzen (Exkluder-Mechanismen zur osmotischen Adaptation) handelt es sich um energieaufwendige Prozesse, die das Wachstum oder energieabhängige Adaptationsmechanismen begrenzen (Marschner, 1995; Marcum, 2006). Die strikte Einteilung von Halophyten in Inkluder und Exkluder ist jedoch umstritten (Marschner, 1995). Auch die eigenen Versuchsergebnisse zum Mineralstoffhaushalt (Kap. 3.6, 3.7) verdeutlichen, daß eine solche Zuordnung nur eine begrenzte Aussagekraft hat, denn z.B. waren die Na^+ - und Cl^- -Ionen innerhalb der Pflanze unterschiedlich verteilt. Veränderungen der für Salzausschluß und Salztole-

ranz bedeutsamen K/Na-Selektivität (Adams et al., 2005; Ben Amor et al., 2005; Peng et al., 2004, in Gulzar & Khan, 2006) bewirken eine interzelluläre Kompartimentierung von NaCl zwischen den Organen von *A. tripolium*, also einen selektiven Langstreckentransport (s.u.) von Ionen. In Übereinstimmung mit vorherigen Untersuchungen zur Strandaster (Matsumura et al., 1998a; Shennan, 1987) und mit anderen Halophyten (Ben Amor et al., 2005; Sibole et al., 2005; Ashraf et al., 2006; Liu et al., 2006), insbesondere solchen mit Salzdrüsen oder mit Salzexkretion durch Blattabwurf (zu letzteren gehört *Aster tripolium*) (Wu et al., 1998, in Koyro, 2000a), stellt die Hauptwurzel das Organ mit der geringsten NaCl-Akkumulation dar. Dies kommt vermutlich zustande durch die erhöhte K/Na-Selektivität der Nebenwurzeln, welche den primären Ort des Salzausschlusses darstellen und als „Salzfilter“ dienen. Die Blattstiele stellen mit einer Abnahme der K/Na-Selektivität - bei einer gleichzeitigen Selektivitätszunahme in den Blattspreiten - einen zweiten „Filter“ bzw. einen „Salzspeicher“ dar, der eine übermäßige Salzakkumulation in den photosynthetisch aktiven Blattspreiten verhindert. Diese „Vorfilter“ sind im Pflanzenreich weit verbreitet und schützen empfindliche Gewebe vor Ionentoxizität (Netondo et al., 2004a; Sibole et al., 2005). Zur Vermeidung einer übermäßigen Salzakkumulation dient auch - wie bei anderen Halophyten des Rosettentyps (Kurban et al., 1999) - eine NaCl-Translokation in ältere Blätter, denn diese zeigten äußere Anzeichen von Natrium- und/oder Chloridtoxizität und starben schließlich ab (Kap. 3.1.1, vgl. auch Kap. 1).

Bei der Strandaster waren auch Anzeichen von Ionenungleichgewicht zu verzeichnen, denn es kam unter salinen Bedingungen zu kontinuierlichen oder transienten Abnahmen verschiedener essentieller Nährelemente (Kap. 3.6-3.8). Die Daten zeigen in Übereinstimmung mit anderen Studien zu *A. tripolium* (Shennan et al., 1987b; Ueda et al., 2003) und zu anderen Arten (Bajji et al., 1998; Khan et al., 2000a; Harrouni et al., 2003; Ben Amor et al., 2005; Ashraf et al., 2006; Liu et al., 2006), daß das als Vorratsspeicher dienende Überwinterungsorgan Hauptwurzel wirksamer vor Ionenungleichgewicht (wie auch vor Ionentoxizität, vgl. diese Seite oben) geschützt wird als die Blätter. Dies gilt v.a. für Kalium, dessen Gehalt in der Hauptwurzel – im Gegensatz zu den Blättern - aufgrund der bereits diskutierten Selektivitätsänderungen nahezu unverändert blieb. Ein Mineralstoffmangel könnte bei *A. tripolium* daher insbesondere in den Blättern auftreten, wofür es folgende Anzeichen gibt: Der Rückgang der spezifischen Aktivitäten von SOD, APO und GST (s.u.) könnte auf den reduzierten Kaliumgehalt zurückzuführen sein, denn Kalium spielt eine wichtige Rolle bei der Stabilisierung des cytoplasmatischen pH-Wertes im Bereich von 7-8, wo viele Enzyme ihr Aktivitätsoptimum aufweisen (Koyro, 2000a), und als Cofaktor von Enzymen, z.B. der APO (Tester & Daven-

port, 2003, Expert Protein Analysis System, o.J.a). Die Reduktion der Photosynthese und der geringere Chlorophyllgehalt dagegen könnten mit der Magnesiumabnahme in Verbindung stehen, da Magnesium ein essentielles Nährelement für die Chlorophyllsynthese und für die Aktivierung einiger Enzyme, z.B. von Rubisco, darstellt (Marschner, 1995; Koyro, 2000b). Auch auf die Chloroplastenstruktur, die bei *A. tripolium* bei Salinität deutlich verändert wurde, wirkt sich Magnesiummangel aus (Koyro, 2000b). Andererseits sprechen verschiedene Tatsachen gegen einen Mineralstoffmangel, d.h. für eine Aufrechterhaltung der Ionenhomöostase im Cytoplasma: Bei *A. tripolium* (Stienstra, 1986; Shennan et al., 1987b; Huiskes, 1994) und anderen Halophyten (Koyro & Huchzermeyer, 1999a; Fisarakis et al., 2001; Venema et al., 2003) können Kalium, Magnesium und Kalzium bzw. Nitrat in ihrer osmotischen Funktion in der Vakuole ohne Wachstumsreduktion durch Natrium bzw. Chlorid ersetzt werden, so daß sie vermehrt für andere, spezifische Funktionen im Cytoplasma zur Verfügung stehen. Daher führt ein Rückgang an essentiellen Nährelementen nicht zwangsläufig zu Mangelerscheinungen. Beispielsweise scheint die essentielle Funktion von Kalium bei der Proteinbiosynthese (Marschner 1995; Wyn Jones & Gorham, 2002; Tester & Davenport, 2003) nicht beeinträchtigt, da der Proteingehalt im Gegensatz zu manchen anderen Pflanzenarten (Agastian et al., 2000; Shankhdhar et al., 2000; Pessarakli et al., 2005b) bei Salinität anstieg. Auch die nur transiente Abnahme des Kalzium- und Magnesiumgehalts sprechen weniger für einen Mangel als für eine effektive Aufnahme dieser Elemente und für eine bedarfsorientierte Versorgung. Ähnliches gilt für Stickstoff und Phosphat. Stickstoff scheint *A. tripolium* bei Salinität größtenteils in die Aminosäure Prolin (s.u.) und in Proteine zu verlagern, deren Gehalt anstieg (Kap. 3.10, 3.12). Die knapper werdenden primären Produkte der N-Assimilation werden also effektiver in organische Substanzen eingebaut. Dies ist eine sinnvolle Strategie, da Prolin und die vermehrt synthetisierten Proteine das Überleben bei Salinität ermöglichen (s. S. 85-87, 91-93). Die Abnahme des Gesamt-N in den Blättern, die in der Literatur auch für andere Arten beschrieben wird (Ramoliya et al., 2004; Hu & Schmidhalter, 2005; Turan & Aydin, 2005), kann man vermutlich in erster Linie auf den - möglicherweise adaptiv - reduzierten Chlorophyllgehalt (s.u.) zurückführen, denn der N-Gehalt von Pflanzen stimmt oft mit der Chlorophyllmenge überein (Ignatova et al., 2005), so auch in der vorliegenden Studie (Kap. 3.4, 3.8). Im Fall von Phosphat stieg der Gehalt in den Wurzeln signifikant an, was vermutlich auf eine vermehrte P_i -Freisetzung durch die erhöhte ATPase-Aktivität (s.u.) zurückzuführen ist. Den Großteil des Phosphatüberschusses verlagert die Strandaster offenbar in das Speicherorgan Wurzel. Die damit einhergehende Phosphatabnahme im Blatt hat vermutlich keine negativen Auswirkungen, denn in diesem Organ kann der Phosphatgehalt auf Ge-

webeniveau um den Faktor 20 variieren, ohne daß dadurch die Konzentration im Cytoplasma und damit die Photosynthese beeinflußt wird (Marschner, 1995).

Die obige Betrachtung zeigt, daß zwar Anzeichen von Ionenungleichgewicht vorliegen; es gibt jedoch keinen gesicherten Nachweis für die Beeinträchtigung der Ionenhomöostase im Cytoplasma und für Ionenungleichgewicht als Hauptursache für die begrenzte Salztoleranz von *A. tripolium*. Um diese These zu bestätigen, wäre es notwendig, die Elementgehalte in verschiedenen Zellkompartimenten z.B. mittels EDX-Analyse/Kryotechnik zu überprüfen.

Bei der Aufrechterhaltung des Stoffwechsels scheinen die Ionen-Kompartimentierung und mit dieser im Zusammenhang stehende energieabhängige selektive Transportprozesse eine wichtige Rolle zu spielen, worauf auch die salzbedingt erhöhten P- und V-ATPase-Aktivitäten und die vermehrte ATPase-Expression (Kap. 3.13, 3.14.2) hinweisen. Huchzermeyer et al. (2004) berichteten bereits, daß der Halophyt *Aster tripolium* generell eine höhere P-ATPase-Aktivität aufweist als der glykophytische Spinat, wobei Salzstreß nur eine vorübergehende, wenige Tage andauernde Zunahme der ATPase-Aktivität bewirkt. Die Autoren schlossen daraus, daß *A. tripolium* im speziellen und Halophyten im allgemeinen über einen sehr effektiven Ionen-transport über das Plasmalemma und eine sehr gut regulierte Ionenhomöostase verfügen. Selektiver Ionen-transport ist von Bedeutung am Plasmalemma der Rhizodermiszellen (selektive Ionenaufnahme, NaCl-Rücktransport aus dem Cytoplasma nach außen) und aller Zellen entlang des Transportweges durch die Pflanze (Kurzstreckentransport im Wurzelcortex, Xylembe- und -entladung im Xylemparenchym vor und nach dem Langstreckentransport, Kurzstreckentransport im Blattparenchym, evtl. NaCl-Retranslokation über Phloem oder Xylem). Innerhalb einzelner Zellen spielt neben der selektiven Aufnahme über das Plasmalemma die Ionen-Kompartimentierung über den Tonoplasten eine Rolle. Die vorliegende Studie erlaubt Aussagen über Transportaktivitäten innerhalb des Blattes, da ATPase-Aktivität und -Expression des Blattspalten-Gewebes untersucht wurden. Zum selektiven Ionen-transport leisten ATPasen einen wichtigen Beitrag, indem sie einen elektrochemischen Protonengradienten am Plasmalemma (P-ATPase) bzw. am Tonoplasten (V-ATPase) erzeugen, der die Voraussetzung für sekundär aktiven Ionen-transport darstellt (Morsomme & Boutry, 2000; Sibole et al., 2005; Vasekina et al., 2005). Diese Prozesse sind jedoch energieabhängig. Einen höheren Energieverbrauch der Zellen, der außerdem durch die vermehrte Synthese von kompatiblen Substanzen wie Prolin oder von verschiedenen Proteinen (s.u.; Marschner, 1995; Munns, 2002a) zustande kommt, zeigt die bei Salinität erhöhte F-ATPase-Aktivität an (Kap. 3.14.2). Diese steht in Einklang mit der verstärkten Dunkelatmung, der höheren Mitochondrienzahl und der erhöhten Elektronendichte in den Mitochondrienmembranen (Kap. 3.3, 3.15.3). Letz-

teres weist auf einen höheren P_i -Gehalt hin, da das Kontrastierungsmittel Blei anorganisches Phosphat ausfällt (Hall, 1971).

Die vorliegenden Ergebnisse zur ATPase-Aktivität und -Expression stimmen mit Studien über andere Pflanzenarten überein (Ma et al., 2002; Kefu et al., 2003; Kav et al., 2004; Li et al., 2004; Debez et al., 2006; Ndimba et al., 2005; Andjelković & Thompson, 2006); laut Koyro et al. (1993) und Dietz et al. (2001) findet man v.a. bei Halophyten eine Erhöhung der ATPase-Aktivitäten und/oder der Genexpression unter salinen Bedingungen. Hinsichtlich des Ionentransports über das Plasmalemma zeigen verschiedene Studien einen Zusammenhang zwischen einer gesteigerten P-ATPase-Expression und -Aktivität und einem verbesserten Natrium-Ausschluß aus dem Blatt oder Sproß (Zhang et al., 1999; Sibole et al., 2005). Für die Kontrolle des Na^+ -Einstroms in die Zelle über das Plasmalemma und für die K/Na-Selektivität spielen u.a. die HKT-Transporter („high affinity K transporter“) eine Rolle, durch die auch Na^+ in die Zelle gelangt (Blumwald et al., 2000). In diesem Zusammenhang konnten u.a. das *AtHKT1*-Gen von *Arabidopsis thaliana* (Rus et al., 2001) sowie die *OsHKT8*- (Ren et al., 2005, in Rus et al., 2005) und *OsHKT1*- (Rus et al., 2005) Gene von *Oryza sativa* identifiziert werden. Deren Genprodukte regulieren indirekt die K-Homöostase, indem sie die interne Na^+ -Konzentration regulieren (Berthomieu et al., 2003; Rus et al., 2004; Rus et al., 2005). Auch Na^+/H^+ -Antiporter im Plasmalemma spielen eine Rolle bei der Aufrechterhaltung des Ionenmilieus im Cytoplasma. Dies zeigt der SOS-Signaltransduktionsweg, der anhand von *Arabidopsis sos1*-, *sos2*- und *sos3*-Mutanten (*sos* = salt overlay-sensitive) entschlüsselt wurde. Die Perzeption einer hohen Na^+ -Konzentration im Cytoplasma bewirkt dort einen Kalziumanstieg, der SOS3, ein Kalzium-bindendes Protein, aktiviert. SOS3 bindet an und aktiviert die Ser/Thr-Proteinkinase SOS2, welche phosphoryliert wird und ihrerseits SOS1 aktiviert, einen Na^+/H^+ -Antiporter im Plasmalemma (Zhu, 2002). SOS1 wird durch P-ATPasen angetrieben (Ndimba et al., 2005). Laut Shi et al. (2002) kontrolliert SOS1 auch den Langstreckentransport von Na^+ , indem er dieses Ion bei Salzbelastung aus dem Xylem herausfiltert und es bei sehr geringer Na^+ -Konzentration ins Xylem transportiert (s. auch Zhang et al., 2004). Derartige molekularbiologische Untersuchungen wären auch für *A. tripolium* lohnenswert, um genauere Aussagen zu Ionentransportprozessen und somit zum Mineralstoffhaushalt treffen zu können. In dieser Hinsicht bietet es sich an, die Strandaster als halophytische Modellpflanze zu entwickeln (vgl. Kap. 1).

Auch Transportprozesse über den Tonoplasten scheinen bei *A. tripolium* durch Salinität beeinflusst zu werden, denn in Übereinstimmung mit den Ergebnissen bei anderen Halophyten (Koyro et al., 1993; Debez et al., 2006) war eine Erhöhung der V-ATPase-Aktivität der salz-

belasteten Pflanzen zu verzeichnen (Kap. 3.14.2). Von der Tätigkeit der V-ATPase und der Pyrophosphatase (PPase) hängt u.a. der sekundär aktive Transport von Na^+ über Na^+/H^+ -Antiporter in die Vakuole ab, der eine wichtige Rolle bei der Sequestrierung des Salzes in diesem Zellkompartiment spielt (Vasekina et al., 2005). So werden Enzyme und Zellorganellen vor Ionentoxizität geschützt. Eine effektive Kompartimentierung ist insbesondere für Halophyten wie *Aster tripolium*, die keine speziellen morphologischen Adaptationen zur Salzsekretion besitzen, von großer Bedeutung für die Salztoleranz (Debez et al., 2006).

Verschiedene Studien zeigen einen Zusammenhang zwischen der Salztoleranz und einer erhöhten Aktivität oder Expression von V-ATPase und/oder PPase. Gaxiola et al. (2001) identifizierten das Gen *AVP1*, welches die PPase codiert. Transgene *Arabidopsis*-Pflanzen, die die PPase überexprimierten und eine höhere Salztoleranz aufwiesen, konnten eine größere Menge an Na^+ in den Vakuolen sequestrieren, somit mehr Na^+ und K^+ in den Blättern akkumulieren und ein niedrigeres osmotisches Potential erreichen. Ähnliche Ergebnisse erhielten Kefu et al. (2003) für *Suaeda salsa*. Kluge et al. (2003) fanden bei *Mesembryanthemum crystallinum* eine Transkriptionsinduktion von V-ATPase- und PPase-cDNA durch verschiedene Streßfaktoren wie osmotischen Streß, Hitze-, Kälte- und Salzstreß. Bei verschiedenen Halophyten und Glykophyten konnten mittlerweile auch vakuoläre Na^+/H^+ -Antiporter-codierende Gene (*NHX1*) identifiziert werden, deren erhöhte Expression mit Salztoleranz in Verbindung steht (Apse et al., 1999; Hamada et al., 2001; He et al., 2005; Zörb et al., 2005).

In der vorliegenden Studie wurde keine vermehrte Expression von Ionenkanälen gefunden (Kap. 3.13). Anscheinend ist das Potential für den Ionentransport generell sehr hoch. Die durch NaCl-Salinität gesteigerte ATPase-Tätigkeit ermöglicht eine Aktivitätszunahme der vorhandenen Kanäle und gewährleistet so die Bereitstellung von Energie für die notwendigen selektiven Ionentransportprozesse. Konkrete Hinweise auf erhöhte Transportaktivitäten liefern ultrastrukturelle Veränderungen (Kap. 3.15.3). In den Mesophyllzellen (Kurzstreckentransport) und Siebröhren des Phloems (Langstreckentransport) wurde in Übereinstimmung mit anderen Pflanzenarten eine vermehrte Vesikelbildung beobachtet, die im Zusammenhang mit energieabhängigen Prozessen wie Transport, Speicherung und Kompartimentierung von NaCl diskutiert wird (Wong & Jäger, 1978; Koyro, 1997; Koyro, 2000a; Kurkova et al., 2002; Mitsuya et al., 2002). Durch die Bildung kleiner Vesikel wird die Membranoberfläche vergrößert, so daß sich die Austauschkapazität des Cytoplasmas (z.B. Na^+/K^+) und die Selektivität des Ionentransportes erhöht (Koyro, 2000a; Koyro, 2002). Die vermehrte Vesikelbildung in den Siebröhren deutet auf eine Retranslokation von Na^+ hin (Koyro, 2000a). Möglicherweise wird dieses Ion aus den Blattspreiten in den Blattstiel oder in alte Blätter rezirkuliert,

die später abgeworfen werden. Eine ähnliche Funktion hinsichtlich des Langstreckentransports könnten die Transferzellen spielen (Boughanmi, 2003), die im Phloemparenchym nachgewiesen wurden. Aufgrund ihrer Zellwandeinstülpungen und des dadurch verlängerten Plasmalemmas, welches zudem eine besonders hohe ATPase-Dichte aufweist („secondary wall ingrowth/plasma membrane complex“), ermöglichen diese Zellen einen sehr intensiven Stofftransport und begünstigen eine erhöhte Austauschkapazität, z.B. von Na^+ gegen K^+ (Koyro, 2002; Offler et al., 2003). Die Tatsache, daß auch die Kontrollen Transferzellen ausbilden, ist ein weiterer Hinweis auf ein großes Potential für Ionentransport unabhängig von der Salinität (Präadaptation).

Neben selektiven Ionentransportprozessen kann auch die Kontrolle des stomatären Widerstandes zum Erhalt der Ionenhomöostase beitragen, denn eine verminderte Transpiration reduziert den Salztransport durch die Pflanze und damit die NaCl-Akkumulation (Everard et al., 1994). Für Pflanzen wie *Aster tripolium*, die keine Salzdrüsen oder Blasenhaare besitzen, ist dies von besonderer Bedeutung (Perera et al., 1994). Die bei *A. tripolium* beobachtete Erhöhung des stomatären Widerstandes dient außerdem dazu, Wasserverlust und Dehydrierung zu vermeiden (s. Kap. 1; Fidalgo et al., 2004). Dieselbe Funktion haben folgende durch NaCl-Salinität bedingte xeromorphe Veränderungen der Blätter (Kap. 3.15), die in ähnlicher Weise auch bei anderen Pflanzenarten nachgewiesen wurden (Hajibagheri et al., 1983, in Koyro, 2002; Koyro, 2000a; Koyro, 2000b; Daoud et al., 2003; Debez et al., 2003a; Koyro, 2006):

- die verdickten Epidermisaußenwände, die dickere Cuticula und möglicherweise die breiteren und auf einer größeren Anzahl von Zellen vorhandenen Laminarleisten;
- die Zunahme der Blattdicke aufgrund von in Vertikalrichtung gestreckten Zellen und einer größeren Anzahl von Mesophyllschichten;
- die infolgedessen steigende LMA;
- die Verringerung der Interzellularräume.

Die letzten drei Faktoren bewirken einen erhöhten Mesophyllwiderstand für CO_2 , was zusammen mit dem steigenden stomatären Widerstand vermutlich für die Reduktion der intrazellulären CO_2 -Konzentration verantwortlich war (Kap. 3.3). Diese wiederum führt insbesondere bei C_3 -Pflanzen wie der Strandaster zu einer Begünstigung der Oxygenase-Funktion der Rubisco, d.h. u.a. zu einer erhöhten Photorespiration auf Kosten der Photosynthese (Delfine et al., 1999; Sudhir & Murthy, 2004; Netondo et al., 2004b; Sobrado, 2005; Debez et al., 2006). Dieser Zusammenhang sowie weitere sich daraus ergebende und in der folgenden Diskussion erläuterte Konsequenzen verdeutlicht Abb. 56. Der Assimilationsrückgang korreliert außer-

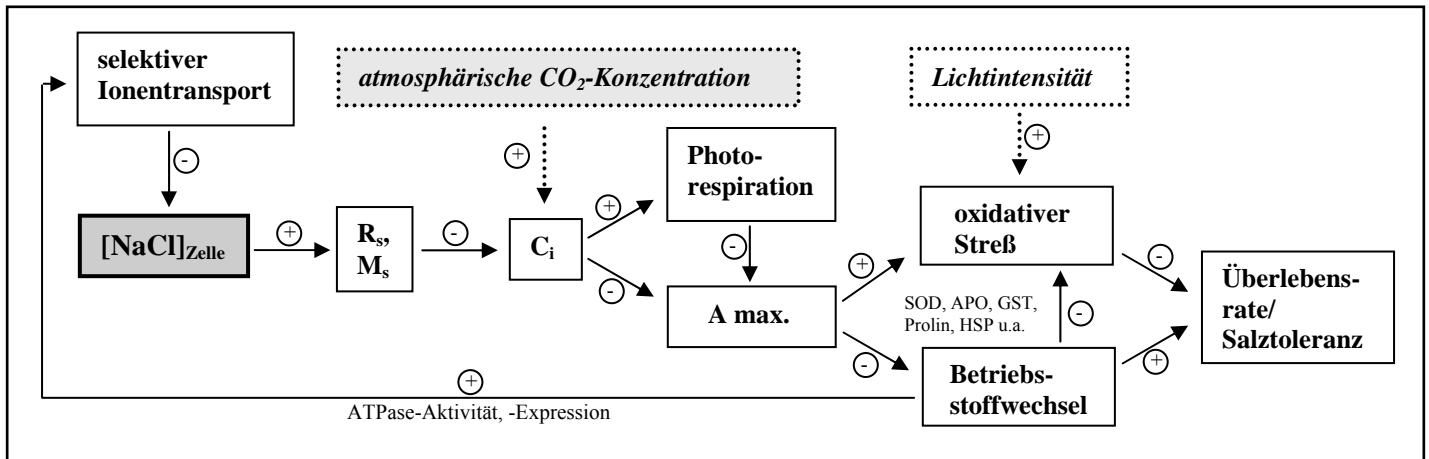


Abb. 56. Reaktionen von *Aster tripolium* auf NaCl-Salinität und deren Beeinflussung durch äußere Faktoren (diese werden im späteren Verlauf der Diskussion erläutert).

\oplus bzw. \ominus bedeuten positive bzw. negative Beeinflussung der nachfolgenden Regelgröße.

R_s = stomatärer Widerstand; M_s = Mesophyllwiderstand; C_i = intrazelluläre CO_2 -Konzentration; A. max = maximale Photosyntheserate bei Lichtsättigung.

dem mit den ultrastrukturellen Veränderungen der Chloroplasten (Kap. 3.15.3). Auch durch eine vermehrte Rubisco-Expression (Kap. 3.13.2) konnte die deutliche Abnahme der Photosyntheserate nicht verhindert werden. Letztere ging stärker zurück als die Transpiration, so daß die Wassernutzungseffizienz der Photosynthese (WUE) signifikant sank. Die Pflanzen können das Wasser anscheinend nicht effektiv für den Katabolismus einsetzen und haben bei hohen Salinitäten Probleme mit der Aufrechterhaltung einer positiven Wasserbilanz (vgl. auch S. 82). Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zu den von Lorenzen et al. (1990) und Huiskes (1996b) für die Strandaster berechneten WUE-Werten, die jedoch bei einer sehr geringen Lichtstärke von nur $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ermittelt wurden und daher nur bedingt mit der vorliegenden Untersuchung vergleichbar sind. Die Ergebnisse der Winterkulturen von *A. tripolium*, die ebenfalls bei geringer Lichtintensität ermittelt wurden, weisen dagegen Ähnlichkeiten mit der Studie von Huiskes (1996b) auf. Diese Betrachtung zeigt, daß sich hohe Lichtintensitäten negativ auf den Gaswechsel der Strandaster auswirken, und bestätigt gleichzeitig die These, daß Salinität die Photorespiration fördert (vgl. Abb. 56). Der damit verbundene Photosyntheserückgang stellt sicherlich eine wichtige Ursache für die Wachstumsreduktion bei Salinität dar. Diese ist im Vergleich mit anderen Halophyten (Khan et al., 2000a, b; Köhl, 1997; Koyro, 2000a; Debez et al., 2003a, b; Daoud, 2004; Pessarakli et al., 2005a) verhältnismäßig groß – ein Grund dafür, daß es sich bei der Strandaster um einen fakultativen und nicht um einen obligaten Halophyten handelt.

Neben der direkten Wachstumsreduktion durch die geringere CO₂-Fixierung führt eine reduzierte Assimilationsrate auch zu oxidativem Streß (sekundärer, unspezifischer Streß), beispielsweise aufgrund einer verstärkten Mehler-Reaktion bei einer Elektronenübersättigung der Photosysteme (Schulze et al., 2002; Ben Amor et al., 2005; s. Kap. 1 und Abb. 56). Ein Indiz für eine erhöhte Belastung durch ROS und dadurch hervorgerufene Schädigungen im Photosyntheseapparat stellen die Aufblähungen der Thylakoidmembranen dar (Kap. 3.15.3). Diese gehören zu den am häufigsten beobachteten ultrastrukturellen NaCl-Effekten (Keiper et al., 1998; Kurkova et al., 2002; Rahman et al., 2002; Mitsuya et al., 2003a; Fidalgo et al., 2004; Paramanova et al., 2004) und werden von vielen Autoren als Folge oxidativen Stresses betrachtet (Mitsuya et al., 2000; Mitsuya et al., 2003a, b; Fidalgo et al., 2004; Yamane et al., 2004; Oksanen et al., 2005). Einen Weg, oxidativen Streß zu reduzieren, stellt die bei Salinität erhöhte Photorespiration dar, denn sie produziert CO₂, verbraucht gleichzeitig O₂, ATP und NADPH und kann so die Mehler-Reaktion vermindern (Wingler et al., 2000). Dafür ist jedoch eine ausreichende Katalasekapazität notwendig, um das bei der Photorespiration entstehende H₂O₂ zu entgiften. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, daß oxidativer Streß einen entscheidenden Faktor für die begrenzte Salztoleranz von *A. tripolium* darstellt und daß dessen Beseitigung eine wichtige Rolle für die Überlebensfähigkeit der Pflanze bei Hochsalz spielt (vgl. Abb. 56). Verschiedene Reaktionen von *A. tripolium* auf Salinität dienen der Verminderung von oxidativem Streß. Die dickere Epidermis, die verdickte Epidermisaußenwand und Cuticula sowie die stärker ausgebildeten Laminarleisten können einen Teil der einfallenden Strahlung reflektieren (Thomas, 2005) und dadurch einen Elektronenüberschuß in der photosynthetischen Elektronentransportkette vermindern. Eine ähnliche Funktion kann der in den adulten Blättern leicht erniedrigte Chlorophyllgehalt (Kap. 3.4) erfüllen. Er reduziert bei der Strandaster zwar einerseits die Assimilationsrate (Lorenzen et al., 1990), aber auch andererseits die Lichtabsorption des Blattes (Delfine et al., 1999; Wang et al., 2003b; Christian, 2005). Für diese These spricht die bei mittlerer Salinität reduzierte photosynthetische Effizienz (Φ), die mit einem niedrigeren Lichtkompensationspunkt gekoppelt war (Kap. 3.3). Bei Hochsalz stieg Φ vermutlich aufgrund der zunehmenden Dunkelatmung wieder an. Auch die Erhöhung des Chlorophyll-a/b-Verhältnisses, wie in den adulten Blättern beobachtet, kann die photosynthetische Effizienz reduzieren (Moorthy & Kathiresan, 1999; in Koyro, 2006), denn Chlorophyll b findet sich v.a. im „light harvesting complex“ (LHC), der insbesondere dem Photosystem II (PS II) Energie zuführt und in den Grana-Stapeln der Thylakoidmembran lokalisiert ist (Libbert, 1993). Letzteres läßt es logisch erscheinen, daß die überproportionale Reduktion von Chlorophyll b im Verhältnis zu Chlorophyll a mit einer Abnahme der Grana-

Stapel bei den salzbelasteten Pflanzen einherging. Dagegen steht die Expressionserhöhung des „chlorophyll a-b binding proteins“ (Kap. 3.13), eines Bestandteils des LHC (Expert Protein Analysis System, o.J.b), zunächst im Widerspruch zur salzbedingten Reduktion des LHC. Dieser Umstand wäre jedoch erklärbar, wenn dieses Protein durch NaCl vom PS-II-Komplex entfernt wird und deshalb vermehrt einzeln vorliegt. Andjelković & Thompson (2006) fanden ebenfalls eine salzinduzierte Expressionserhöhung des „chlorophyll a-b binding proteins“, waren sich jedoch nicht über dessen Funktion im Hinblick auf NaCl-Salinität im klaren. Es erscheint sinnvoll, den Einfluß von NaCl auf die Wechselbeziehung des „chlorophyll a-b binding proteins“ mit der Photosynthese näher zu untersuchen.

Für die Entgiftung von ROS und deren Folgeprodukten war bei der Strandaster sicherlich die vermehrte Expression der antioxidativen Enzyme Ascorbat-Peroxidase (APO), Superoxid-Dismutase (SOD) und Glutathion-S-Transferase (GST) (Kap. 3.13) von Bedeutung (vgl. auch Abb. 56). APO und SOD gehören zu den wichtigsten Mechanismen zur Beseitigung von ROS (Ben Amor et al., 2005) und sind entscheidende Bestandteile des Halliwell-Asada-Stoffwechselweges (Foyer & Halliwell, 1976; Halliwell, 1987; Asada, 1992). Glutathion-S-Transferasen übertragen reduziertes Glutathion (GSH) u.a. auf cytotoxische Komponenten, die durch oxidativen Streß entstehen, und können auf diese Weise z.B. Produkte der Lipidperoxidation detoxifizieren (Blokchina et al., 2003).

Für Pflanzen auf salinen Standorten ist es von großer Bedeutung, die Aktivität des antioxidativen Systems aufrechtzuerhalten oder, besser noch, zu steigern. Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, daß *Aster tripolium* dazu in der Lage zu sein scheint. Zwar bewirkte NaCl eine deutliche Abnahme der spezifischen Aktivitäten (pro mg des jeweiligen Enzyms) von SOD und APO, woraus sich schließen läßt, daß hohe Konzentrationen an Na⁺ und Cl⁻ diese Enzyme durch osmotische und/oder ionenspezifische Effekte inhibieren. Die relativen Aktivitäten (pro mg Gesamtprotein) zeigen jedoch, daß die Pflanzen dies erfolgreich durch die erhöhte Proteinexpression ausgleichen; im Fall von APO und SOD können sie den Verlust an spezifischer Aktivität sogar überkompensieren. Auch bei vielen anderen Pflanzenarten findet man eine verstärkte Expression und/oder Aktivität von APO, SOD oder GST bei Kälte-, Trocken- oder Salzstreß (Garratt et al., 2002; Hernández & Almansa, 2002; Mittova et al., 2002; Salekdeh et al., 2002a; Khedr et al., 2003; Abbasi & Komatsu, 2004; Kav et al., 2004; Ben Amor et al., 2005; Hajheidari et al., 2005; Kukreja et al., 2005; Ndimba et al., 2005; Yan et al., 2005; Stepien & Klobus, 2005; Andjelković & Thompson, 2006). In einigen Fällen gibt es einen direkten Bezug zwischen der Aktivitätserhöhung antioxidativer Enzyme und der Salztoleranz (Roxas et al., 2000; Shalata et al., 2001; Mittova et al., 2004). Die SOD wird codiert von osmo-

tisch regulierten Genen, die Bestandteile einer Signaltransduktions-Kaskade sind (Abbasi & Komatsu, 2004). Dieselben Autoren verweisen in diesem Zusammenhang auf Abscisinsäure als einem Faktor, der die Genexpression von SOD reguliert, wie auch diejenige von anderen Genen, die durch Trockenstreß und Ionentoxizität beeinflusst werden (z.B. Transpiration/Stomatabewegung; s. Munns, 2002b; Salekdeh et al., 2002b; Reddy et al., 2004). H_2O_2 , das bei oxidativem Streß vermehrt entsteht, wird ebenfalls eine (noch nicht genau definierte) Rolle bei der Signaltransduktion zugeschrieben (Fidalgo et al., 2004). Mittlerweile konnten zahlreiche Gene, die für die Signaltransduktion unter abiotischem Streß von Bedeutung sind, identifiziert werden (Wyn-Jones & Gorham 2002; Wang et al., 2003a; Sairam & Tyagi, 2004; Munns, 2005). Studien zur Signaltransduktion und zur Rolle von Phytohormonen wären auch bei *Aster tripolium* interessant.

Einen Beitrag zur Reduzierung von oxidativem Streß lieferten sicherlich auch der erwartungsgemäß (s. Kap. 1) signifikant erhöhte Prolingehalt sowie das bei Salinität vermehrt exprimierte Hitzeschockprotein (HSP) 20 (Kap. 3.10, 3.13; vgl. auch Abb. 56). HSPs sind ein unspezifisches Kennzeichen der Antwort auf verschiedene abiotische Streßfaktoren wie Hitze, Frost, Trockenheit oder NaCl-Salinität und kommen in Pflanzen besonders reichlich vor (Schulze et al., 2002; Huang et al., 2004; Busch et al., 2005). Sie wirken in erster Linie als niedermolekulare Chaperone, indem sie an Proteine binden und damit deren richtige Faltung begünstigen, die biologisch aktive Konformation beschädigter Proteine wiederherstellen und die Aggregatbildung geschädigter Proteine verhindern (Schulze et al., 2002; Wang et al., 2002; Huang et al., 2004). HSPs können aber auch die intrazelluläre Menge an ROS verringern (Hajheidari et al., 2005). Die verstärkte Expression von Hitzeschock- oder ähnlichen Proteinen kann somit die Salztoleranz von Pflanzen erhöhen und wurde bereits in zahlreichen Studien im Zusammenhang mit NaCl-Salinität und Trockenstreß nachgewiesen (Sugino et al., 1999; Dell'Aquila, 2004; Huang et al., 2004; Hajheidari et al., 2005; Lee et al., 2005; Ndimba et al., 2005; Andjelković & Thompson, 2006).

Auch Prolin kann oxidativen Streß reduzieren. Bei dieser Aminosäure handelt es sich um eine stoffwechselkompatible Substanz, die von zahlreichen Halophyten und Glykophyten als Reaktion auf NaCl-Salinität und andere abiotische Streßfaktoren akkumuliert wird (Pahlich et al., 1981; Bajji et al., 1998; Gleeson et al., 2005; Misra & Gupta, 2005). Prolin fungiert als „scavenger“ für Hydroxyl-Radikale und Singulett-Sauerstoff (Jain et al., 2001; Lin et al., 2002; Gleeson et al., 2005; Misra & Gupta, 2005), vermindert eine salzbedingte Erhöhung der Rubisco-Oxygenase-Funktion (Sivakumar et al., 2000; Misra & Gupta, 2005) und spielt möglicherweise eine Rolle bei der Signaltransduktion und bei der Aktivierung verschiedener

Streßantworten der Zelle, z.B. der vermehrten Expression antioxidativer Enzyme (Maggio et al., 2002; Khedr et al., 2003). Auch in anderer Hinsicht kann Prolin negative Auswirkungen von Salinität vermindern und die Salztoleranz von Pflanzen erhöhen. Diese Aminosäure ist extrem wasserlöslich, biochemisch inert und kann in der Zelle in hohen Konzentrationen in osmotisch wirksamer Form als C-, N- und Energiespeicher dienen (Jäger & Meyer, 1977; Fricke & Pahlich, 1990; Lin et al., 2002; Misra & Gupta, 2005). Sie bildet Cluster, die sich an schwer lösliche Proteine anlagern und deren Ausfällung verhindern (Schulze et al., 2002), hat somit Chaperonfunktion (Lin et al., 2002; Gleeson et al., 2005; Misra & Gupta, 2005) und kann aufgrund ihrer Schutzwirkung auf Membranen den Wasserstatus der Zelle erhöhen (verminderter Wasser-Efflux; Gadallah, 1999) und die Ionenhomöostase verbessern (Aziz et al., 1999; Gleeson et al., 2005). Die Akkumulation von Prolin vorzugsweise in der Hauptwurzel von *A. tripolium* steht in Einklang mit ihrem geringeren NaCl-Gehalt (s.o.) und macht wiederum deutlich, daß das als Vorratsspeicher dienende Überwinterungsorgan besonders wirksam gegen salzbedingte Schäden geschützt wird. Ähnliches gilt für die bei Salinität in der Hauptwurzel verstärkt akkumulierten löslichen Kohlenhydrate (Kap. 3.9). Als stoffwechselkompatible Substanzen tragen sie zur osmotischen Adaptation im Cytoplasma bei (Adams et al., 2005; Ashraf et al., 2006), und außerdem wird ihre Funktion als niedermolekulare Chaperone diskutiert (Hasegawa et al., 2000; Sairam & Tyagi, 2004; Liu et al., 2006). In den Blättern dagegen nahm die Kohlenhydrat-Konzentration salzbedingt ab, während die Proteinsynthese anstieg; dies zeigt erneut, daß in Blättern und Hauptwurzeln verschiedene Adaptationsmechanismen vorherrschen. Möglicherweise bewirkte der höhere Proteinbedarf eine Umstellung des Metabolismus von der Kohlenhydrat-Speicherung zur Proteinsynthese (Koyro & Huchzermeyer, 2004). Außerdem wurde vermutlich mehr Glucose für die gesteigerte Respiration (Fernandes et al., 2004) und für die Synthese von Ascorbat (für die erhöhte Ascorbat-Peroxidase-Aktivität; McKersie, 1996) gebraucht. Auch mit der Stärkeanreicherung in den Chloroplasten (Kap. 3.15.3), die ebenso bei anderen Pflanzenarten beobachtet wurde (Keiper et al., 1998; Morales et al., 1998; Mäkelä et al., 2000; Koyro, 2002), steht der reduzierte Blatt-Kohlenhydratgehalt in Verbindung. Laut Keiper et al. (1998) können stärkeabbauende Enzyme ionenspezifisch inhibiert werden, oder Salinität induziert eine Umwandlung von Sacchariden in Stärke (Parida et al., 2004). Möglicherweise legt *A. tripolium* unter salinen Bedingungen gezielt einen Reserve-Stärkespeicher an, der freigesetzt und metabolisiert wird, wenn bei Nachlassen des Stresses bessere Wachstumsbedingungen herrschen.

Da für das Überleben auf salinen Standorten die Regulation des Gaswechsels und damit die Zusammensetzung der Atmosphäre eine wichtige Rolle spielt (s. S. 88ff, vgl. auch Kap. 1), sollten Untersuchungen zur Adaptation an Salinität auch die aktuellen und zukünftigen Veränderungen in der Atmosphäre berücksichtigen. Zu diesen zählt die Zunahme des CO₂-Gehalts, die die Salztoleranz positiv beeinflussen kann (s. Kap. 1). In Übereinstimmung mit anderen Studien (Donnelly et al., 1999; Taub et al., 2000; Dickson et al., 2001; Oksanen et al., 2001; Carvalho & Amâncio, 2002; Baczek-Kwinta & Kościelniak, 2003; Oksanen et al., 2005) bewirkte eine Erhöhung der atmosphärischen CO₂-Konzentration eine Reduktion des oxidativen Stresses und eine Verbesserung der Salztoleranz der Strandaster (vgl. Abb. 56). Ein höherer CO₂-Gehalt in der Atmosphäre führte zu einem Anstieg der CO₂-Konzentration in den Interzellularen und zu einer signifikant höheren Nettoassimilationsrate, was bei den Salzvarianten eine signifikante Zunahme der WUE bewirkte (Kap. 3.3). Dies bedeutet, daß die Pflanzen besser mit energiereichen organischen Substanzen versorgt wurden, bei einer gleichzeitigen Entlastung des Wasserhaushalts. Letzteres zeigen auch die höheren Werte für Wasserpotential und Blattgewebe-Turgor bei Hochsalz an (Kap. 3.2, 3.5). Die Verminderung des stomatären Widerstandes steht im Gegensatz zur Mehrzahl der CO₂-Wirkungsstudien, die von einer Erhöhung von Wasserpotential, Photosynthese, WUE und/oder Turgor bei einer gleichzeitigen Transpirationsabnahme berichten - darunter auch drei Untersuchungen zu *A. tripolium*, welche anders als die aktuelle Studie nicht bei Lichtsättigung durchgeführt wurden (Lenssen & Rozema, 1990; Rozema et al., 1990; Tyree & Alexander, 1993; Idso & Idso, 1994; Lenssen et al., 1995; Snedaker & Araújo, 1998; Mavrogianopoulos et al., 1999; Kimball et al., 2002; Long et al., 2004). Messungen bei niedrigen Lichtintensitäten hätten vermutlich auch bei den Pflanzen der vorliegenden Studie eine Erhöhung des stomatären Widerstandes ergeben (vgl. S. 89). In der Literatur finden sich allerdings auch vereinzelte Beispiele einer CO₂-bedingten Transpirationserhöhung [z.B. *Rhizophora apiculata* (Ball & Munns, 1992; Ball et al., 1997), *Lolium perenne* (Tyree & Alexander, 1993)]. In diesen Fällen, wie auch bei den Strandastern der aktuellen Untersuchung, scheint hinsichtlich des Gaswechsels nicht in erster Linie die Vermeidung von Wasserverlust, sondern die Reduktion der Photorespiration und die Maximierung der Photosyntheserate und des Energiegewinns im Vordergrund zu stehen. Hierzu tragen bei *A. tripolium* auch der signifikant erhöhte Chlorophyllgehalt und die tendenziell größere Rubiscomenge (Kap. 3.4) bei. Diese Ergebnisse zeigen gleichzeitig, daß im Gegensatz zu vielen anderen CO₂-Wirkungsstudien (Fangmeier & Jäger, 2001; Urban, 2003; Long et al., 2004; Prasad et al., 2004) zumindest im Zeitrahmen der vorliegenden Untersuchung keine Akklimatisierung der Photosynthese an erhöhte CO₂-Konzentration statt-

fand, d.h. es gab keinen mit einem geringeren Chlorophyll- und Rubiscogehalt einhergehenden mittel- oder langfristigen Rückgang der Photosynthese-Förderung durch CO₂. Die Akklimatisierung ist abhängig vom Source-Sink-Verhältnis innerhalb der Pflanze und wird oft abgeschwächt oder verhindert, wenn unter erhöhter CO₂-Konzentration C-Senken vergrößert oder neue erschlossen werden können (Gouk et al., 1999; Laitinen et al., 2000; Engloner et al., 2003). Da die salzbelasteten *Aster-tripolium*-Pflanzen vermehrt in energieaufwendige salztoleranzfördernde Mechanismen investieren (s.u.), also ihre C-Senken vergrößern, entspricht es der Logik, daß sie keine Akklimatisierung zeigen.

Die Maximierung von CO₂-Aufnahme und Photosyntheserate unter erhöhter CO₂-Konzentration ist eine sehr sinnvolle Strategie, da nicht in erster Linie Wassermangel, sondern die reduzierte Nettoassimilation und damit einhergehender oxidativer Streß die Salztoleranz von *A. tripolium* begrenzen (s.o.) und die erleichterte CO₂-Aufnahme die Photorespiration und eine Elektronenübersättigung der Photosysteme vermindert (Marabottini et al., 2001; Baczek-Kwinta & Kościelniak, 2003; Oksanen et al., 2005); erhöhte atmosphärische CO₂-Konzentration verringert bei der Strandaster mit dem C₃-Stoffwechsel einhergehende Prozesse, die sich auf salinen Standorten im Vergleich mit C₄-Pflanzen nachteilig auswirken (vgl. Abb. 56). Dies trägt zur höheren Überlebensrate bzw. Salztoleranz der Hochsalzvarianten unter erhöhtem CO₂ bei.

Die erhöhte Netto-Assimilationsrate von *A. tripolium* hatte eine bessere Versorgung mit energiereichen organischen Substanzen zur Folge. Ein direkter Hinweis darauf ist die vermehrte Akkumulation von nicht-strukturellen Kohlenhydraten (bei den Salzvarianten insbesondere in Form von löslichen Kohlenhydraten; Kap. 3.9, 3.15.3), grundsätzlich eine der auffälligsten Metabolit-Änderungen, die mit erhöhten CO₂-Konzentrationen einhergehen (Li et al., 1999b; Schmitt et al., 1999; Bae & Sicher, 2004; Long et al., 2004; Casanova Katny et al., 2005; Walter et al., 2005). Der Stärkeanteil nahm im Gegensatz zu natürlich atmosphärischer CO₂-Konzentration bei NaCl-Salinität ab. Dies weist darauf hin, daß die salzbelasteten Pflanzen unter erhöhtem CO₂ keinen Reserve-Stärkespeicher anlegen (vgl. S. 93), sondern einen größeren Anteil der Stärke metabolisieren, da bessere Wachstumsbedingungen herrschen. Ein weiterer Grund für die Stärkeabnahme bei Salinität könnte sein, daß eine geringere Menge dieses Polysaccharides synthetisiert wird, weil eine Kohlenhydrat-Speicherung in Form von Mono- oder Disacchariden unter salinen Bedingungen von Vorteil ist, denn diese können als kompatible, osmotisch wirksame Substanzen die Salztoleranz verbessern (s.o.). Die unter erhöhter CO₂-Konzentration zusätzlich gewonnenen energiereichen Substanzen investierten die salzbelasteten Strandastern nicht in Wachstum; nur die Kontrollen und die 125 NaCl-Varianten wie-

sen ein tendenziell höheres Trockengewicht auf (Kap. 3.1). Diese Wachstumsreaktion auf erhöhtes CO₂ steht im Gegensatz zu zahlreichen Studien, die auch auf salinen Substraten von einer CO₂-bedingten vermehrten Biomasseproduktion berichten (Schwarz & Gale, 1984; Rozema et al., 1990; Ball & Munns, 1992; Idso & Idso, 1994; Ball et al., 1997; Chen et al., 1999; Li et al., 1999a; Mavrogianopoulos et al., 1999; Poorter & Pérez-Soba, 2001; Maggio et al., 2002). Sie relativiert zudem die Ansicht, daß insbesondere C₃-Pflanzen, zu denen *A. tripolium* zählt, durch erhöhtes CO₂ im Wachstum gefördert werden (Rogers & Dahlman, 1993; Poorter et al., 1996; Urban, 2003), was Rozema et al. (1991), Arp et al. (1993) und Lenssen et al. (1993) auch für Halophyten beobachteten. Der fehlende Biomassezuwachs der Strandastern steht jedoch in Übereinstimmung mit zwei Studien von Hunt et al. (1991, 1993; in Fangmeier & Jäger, 2001), die berichten, daß das Wachstum von Pflanzen, die an abiotische Streßfaktoren adaptiert sind (sogenannte S-Strategen oder „stress tolerators“, zu denen *A. tripolium* zählt), durch erhöhtes CO₂ verhältnismäßig gering gefördert wird. Auch laut Poorter & Navas (2003) profitieren langsam wachsende Kräuter - zu denen S-Strategen bzw. die salzbelasteten Strandastern gehören (Grime, 1977; Larcher, 2001) - weniger von erhöhter CO₂-Konzentration als schnell wachsende Arten.

Die Salzvarianten von *A. tripolium* zeigten keine Wachstumsstimulation unter erhöhter CO₂-Konzentration, weil sie einen höheren Energieverbrauch hatten. Letzteres läßt sich aus der verstärkten Dunkelatmung und der Zunahme der F-ATPase-Aktivität (Kap. 3.3., 3.14.2) schließen. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, daß die Strandaster die zusätzlich gewonnene Energie in salztoleranzfördernde Mechanismen investiert, die insbesondere der Verminderung von oxidativem Streß zu dienen scheinen. Zum einen wird die verwertbare Lichtmenge reduziert. In Übereinstimmung mit anderen Studien (Tipping & Murray, 1999; Oksanen et al., 2005) werden die Epidermisaußenwand und die Cuticula signifikant verdickt (Kap. 3.15), da mehr Kohlenstoff-Skelette (höherer C-Gehalt der Gewebe) zur Verfügung stehen (Tingey et al., 2003). Dadurch wird ein größerer Teil der einfallenden Strahlung reflektiert. Laut Thomas (2005) ist unter erhöhter CO₂-Konzentration die Erhöhung der Blattreflexion ein oft zu beobachtendes Phänomen. Eine ähnliche Funktion erfüllen die in größerer Menge vorhandenen Carotinoide (Kap. 3.4). Sie tragen als „Schutzpigmente“ zur nicht-photochemischen Dissipation von überschüssiger Exzitationsenergie bei durch Wärmedissipation oder durch nicht schädliche chemische Reaktionen wie dem Xanthophyllzyklus (Lu et al., 2003; Christian, 2005). Zum anderen können vorhandene ROS wirksamer durch antioxidative Enzyme beseitigt werden, denn die Expression und die relativen Aktivitäten (pro mg Gesamtprotein) von APO, SOD und GST waren signifikant höher als unter natürlich atmosphärischen Bedingun-

gen, ebenso die spezifische Aktivität der APO (pro mg APO) (Kap. 3.13, 3.14). Die vorliegenden Ergebnisse stimmen mit den Studien von Marabottini et al. (2001) und Rao et al. (1995) überein. Erstere verzeichneten eine erhöhte Aktivität von Katalase, APO und SOD bei trockengestreßten *Quercus*-Arten unter erhöhtem CO₂, letztere beobachteten eine länger anhaltende hohe Aktivität von Glutathion-Reduktase, APO und SOD bei ozongestreßtem Weizen. In beiden Fällen wurden die Folgen von oxidativem Streß abgemildert. Ähnliche Ergebnisse erhielten Schwanz & Polle (2001), die die trockentolerante Art *Quercus robur* und die nicht tolerante *Pinus pinaster* untersuchten. Sie fanden heraus, daß *Q. robur* generell eine höhere Aktivität verschiedener antioxidativer Enzyme aufweist; außerdem mildert erhöhte CO₂-Konzentration bei beiden Arten Schäden durch Trockenstreß aufgrund einer höheren Stabilität antioxidativer Enzyme und einer gesteigerten SOD-Aktivität. Da für die Funktion des antioxidativen Systems die Balance zwischen allen daran beteiligten Enzymen eine wichtige Rolle spielt, wäre es wünschenswert, für *A. tripolium* auch die Aktivitäten der anderen Enzyme des Halliwell-Asada-Stoffwechselweges zu bestimmen. Nur so ließe sich seine Bedeutung für die Salztoleranz und deren Beeinflussung durch erhöhte CO₂-Konzentration abschließend beurteilen.

Zur effektiveren Beseitigung von ROS unter erhöhter CO₂-Konzentration können bei *A. tripolium* auch die vermehrte Akkumulation des HSP 20 und von Prolin (Kap. 3.10, 3.13) beitragen (vgl. S. 92-93). Zudem können die genannten Substanzen durch ihre Schutzwirkung auf Proteine u.a. die Erhöhung der spezifischen APO-Aktivität bewirken. Möglicherweise werden aus demselben Grund auch stärkeabbauende Enzyme weniger stark gehemmt, so daß die Pflanzen einen verhältnismäßig größeren Anteil der Stärke metabolisieren können (s.o.). Daß die stärkere Prolinanreicherung v.a. in den Blattspreiten auftritt, ist damit zu erklären, daß die Blätter einerseits die primäre Wirkungsstätte für erhöhtes CO₂ und andererseits den Hauptort für oxidativen Streß darstellen. Die Hauptwurzel bedarf weniger einer zusätzlichen Akkumulation organischer Substanzen als die Blätter, da sie bereits bei natürlich atmosphärischer CO₂-Konzentration durch einen hohen Gehalt an kompatiblen Substanzen (und durch eine geringe NaCl-Akkumulation) gut vor den Folgen hoher NaCl-Konzentrationen geschützt ist. Ein konkreter struktureller Hinweis auf eine geringere Belastung durch ROS bei erhöhter atmosphärischer CO₂-Konzentration ist die größere Anzahl intakter Chloroplasten mit weniger stark aufgeblähten Thylakoidmembranen bei den Hochsalzvarianten (Kap. 3.15.3), was auch Oksanen et al. (2001) bei ozongestreßten *Populus-tremuloides*- und *Betula-papyrifera*-Pflanzen beobachteten. Dies ist von großer Bedeutung, da den Chloroplasten als dem Ort der Photosynthese eine Schlüsselfunktion bei der Adaptation an Salinität zukommt. Die Intaktheit

der Plastiden korreliert mit der höheren Assimilationsleistung von *A. tripolium*, so daß selbst mit weniger Chloroplasten (Abb. 49) eine deutlich höhere Photosyntheserate möglich ist. Auf diese Weise können die Pflanzen wertvolle Energie statt für die Chloroplastenbildung oder –reparatur für Mechanismen zur Erhöhung der Überlebensrate (s.o.) nutzen. Die reduzierte oxidative Belastung der Zellen unter erhöhtem CO₂ könnte ihrerseits zur gesteigerten ATPase-Aktivität von *A. tripolium* beitragen, denn zumindest die V-ATPase wird durch oxidiertes Glutathion und durch H₂O₂ inhibiert (Dietz et al., 2001). Die erhöhte Aktivität von P-, V- und F-ATPase sowie die verstärkte Expression der ATPase- β -Untereinheit (Kap. 3.13, 3.14.2) weisen darauf hin, daß die Strandaster unter erhöhter CO₂-Konzentration auch vermehrt in NaCl-Kompartimentierung und/oder in andere Membrantransportprozesse investiert. Für die Sequestrierung des Salzes in den Vakuolen können sich zudem die größeren Mesophyllzellen (Kap. 3.15.1) positiv auswirken, weil diese größere Vakuolen und damit eine höhere Kompartimentierungskapazität besitzen (Ayala et al., 1996). Da sich die Ionenverteilung innerhalb der Pflanze bei erhöhtem CO₂ kaum ändert, kann man spekulieren, daß neben der NaCl-Sequestrierung v.a. Transportprozesse von organischen Substanzen betroffen sind, wie z.B. von den vermehrt akkumulierten Kohlenhydraten. So findet z.B. die Beladung von Saccharose in die Siebröhren sekundär aktiv im Symport mit H⁺ statt, wobei der notwendige elektrochemische Gradient von P-ATPasen der Siebröhren erzeugt wird (Marschner, 1995; Offler et al., 2003). Gezielte elektronenmikroskopische Untersuchungen dieser Zellen sowie des Phloemparenchyms (z.B. Veränderungen bei den Transferzellen) könnten genaueren Aufschluß über diesen Sachverhalt geben.

A. tripolium synthetisiert unter erhöhter atmosphärischer CO₂-Konzentration vermehrt Proteine, die zur Verbesserung der Salztoleranz beitragen (s.o.). Die verstärkte Akkumulation dieser Proteine sowie von Prolin steht in Einklang mit dem höheren Gehalt an löslichem Gesamtprotein sowie mit der Entwicklung des N-Gehalts (Kap. 3.8, 3.12). Letzterer nahm in den Blättern der Kontrollen und der Salzvarianten in Übereinstimmung mit nahezu allen vergleichbaren Studien (Idso & Idso, 2001; Pal et al., 2003; Tingey et al., 2003; Long et al., 2004; Oksanen et al., 2005) signifikant ab (Kap. 3.8). Bei den salzbelasteten Pflanzen hatte die erhöhte CO₂-Konzentration jedoch einen deutlich geringeren Einfluß auf den N-Gehalt, so daß bei den [CO₂]₅₂₀-Varianten kein signifikanter salzbedingter N-Rückgang zu verzeichnen war. Gleichzeitig stieg in den salzbelasteten Blättern unter erhöhtem CO₂ das Verhältnis von organischem zu anorganischem Stickstoff an, was darauf hinweist, daß dieser effektiver assimiliert und für lebenserhaltende Salztoleranzmechanismen genutzt wird (z.B. höherer Gehalt an Prolin, Proteinen, Chlorophyll; vgl. auch S. 84). Auch die erwartungsgemäß (s. Kap. 1) höhe-

re Stickstoffnutzungseffizienz – bei Salinität bedingt durch den höheren C-Gehalt der Gewebe – stellt für die Pflanze einen Vorteil dar. Dieser positive Einfluß von erhöhter CO₂-Konzentration auf den N-Gehalt der salzbelasteten Pflanzen dürfte zur Verbesserung der Salztoleranz beitragen.

Abgesehen von den Elementen C und N bewirkte eine Erhöhung der atmosphärischen CO₂-Konzentration nur geringfügige Änderungen des Mineralstoffhaushalts von *A. tripolium*, bei deutlich höherer Überlebensrate der Pflanzen (Kap. 3.1.2). Das ist neben den nur geringen Anzeichen von Ionentoxizität und Ionenungleichgewicht unter natürlich atmosphärischer CO₂-Konzentration (s. S. 85) ein weiteres Indiz dafür, daß diese Faktoren nicht als hauptverantwortlich für die begrenzte Salztoleranz der Strandaster angesehen werden können.

Die obige Betrachtung zeigt, daß eine erhöhte atmosphärische CO₂-Konzentration die Salztoleranz von *A. tripolium* verbessert, indem sie die Photosyntheserate steigert und damit einerseits direkt oxidativen Streß verringert und andererseits der Pflanze mehr Energie für lebenserhaltende, salztoleranzfördernde Mechanismen zur Verfügung stellt (vgl. Abb. 56). Diese setzt die Strandaster v.a. für die wirksame Reduktion von oxidativem Streß ein. Aus den Ergebnissen kann man schließen, daß es sich bei *Aster tripolium* um einen vielversprechenden „cash-crop“-Halophyten handelt, der vermutlich von einem zukünftig steigenden atmosphärischen CO₂-Gehalt profitieren wird und sich in seinem gesamten natürlichen Verbreitungsgebiet zur Kultivierung unter Brackwasserbewässerung (bis 250 mol m⁻³ NaCl) eignet. Die vorliegende Studie legt einen Grundstein für eine erfolgreiche und nachhaltige dauerhafte Nutzung von *A. tripolium*, die dazu beitragen kann, dem globalen Klimawandel und seinen Folgen entgegenzuwirken und die Lebensgrundlage der Menschen in ariden Klimazonen zu sichern.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Desertifikation und damit einhergehende Bodenversalzung begrenzen in ariden und semiariden Klimazonen zunehmend den Nutzpflanzenanbau und bedrohen die Lebensgrundlage zahlreicher Menschen. Eine vielversprechende Lösung für dieses Problem stellt die nachhaltige dauerhafte Nutzung von „cash-crop“-Halophyten unter Meerwasserbewässerung dar, denn sie ermöglicht die Entsalzung von Böden und die Wiedernutzbarmachung von degradiertem Land. Hierfür sind jedoch u.a. Informationen über salztoleranzfördernde und -begrenzende Mechanismen der in Frage kommenden Arten unverzichtbar. Vor diesem Hintergrund diente die vorliegende Arbeit dazu, die Adaptationsmechanismen des potentiellen „cash-crop“-Halophyten *Aster tripolium* an NaCl-Salinität zu untersuchen und die bei Salinität wachstumseinschränkende Faktoren (osmotische Effekte, Reduktion des CO₂-Gaswechsels, Ionentoxizität, Ionenungleichgewicht) zu ermitteln. Dazu wurden die Strandastern in einem Schnelltestsystem mit Nährlösungen fünf verschiedener Salinitätsstufen (0%, 25%, 50%, 75% und 100% Meerwassersalinität) bewässert. Aufbauend auf Basisdaten zu Wasserhaushalt, Gaswechsel und Mineralstoffhaushalt wurden weiterführende spezielle Untersuchungen (Ultrastruktur, Proteom-Analyse, Aktivität antioxidativer Enzyme) durchgeführt. Für die Zukunft wird eine steigende atmosphärische CO₂-Konzentration prognostiziert, die aufgrund ihrer positiven Auswirkung auf Wasserhaushalt und Photosyntheserate die Salzverträglichkeit von C₃-Pflanzen wie *A. tripolium* verbessern kann; andererseits kann die dauerhafte Nutzung von Halophyten zur CO₂-Sequestrierung - also zur Abmilderung des Treibhauseffektes - beitragen. Daher wurde außerdem der Einfluß von erhöhter atmosphärischer CO₂-Konzentration auf die Salztoleranz von *A. tripolium* untersucht, indem die Auswirkungen von NaCl-Salinität auf die in Open-Top-Kammern angezogenen Pflanzen unter natürlich atmosphärischer (ca. 380 ppm) und erhöhter CO₂-Konzentration (ca. 520 ppm) verglichen wurden.

An wichtigen Ergebnissen sind zu nennen: Unter natürlich atmosphärischer CO₂-Konzentration sank das Blattwasserpotential von *A. tripolium* als Reaktion auf NaCl-Salinität deutlich unter dasjenige der Nährlösung, was dafür spricht, daß die Pflanzen genügend Wasser aufnehmen konnten. Andererseits war aufgrund des sinkenden Turgors der Hochsalzvarianten nicht auszuschließen, daß es zu Wassertransport- und -verteilungsproblemen innerhalb der Pflanze kam. Die osmotische Adaptation erfolgte in allen Pflanzenorganen insbesondere durch die Akkumulation von Na⁺ und Cl⁻ (Inkludertyp). Auffällig war die unterschiedliche Verteilung des Salzes zwischen den verschiedenen Organen. Die Nebenwurzeln wiesen eine hohe, die Blattstiele dagegen eine niedrige K/Na-Selektivität auf. Diese beiden Organe dien-

ten als „Salzfilter“, die die Blattspreiten, v.a. aber die Hauptwurzel – das als Reservespeicher dienende Überwinterungsorgan - vor einer übermäßigen Salzakkumulation bewahrten. Insgesamt waren nur geringe Anzeichen von Ionentoxizität und Ionenungleichgewicht zu beobachten, so daß diese Faktoren die Salztoleranz nicht entscheidend zu begrenzen scheinen. Für die Aufrechterhaltung der Ionenhomöostase sind die signifikant erhöhte ATPase-Expression und -Aktivität sowie die größere Anzahl von Vesikeln von Bedeutung, die auf eine effektive Ionenkompartimentierung und einen vermehrten energieabhängigen selektiven Ionentransport hinweisen. Dem Erhalt der Ionenhomöostase diene auch die Erhöhung des stomatären Widerstandes (R_s), welche die Salzakkumulation reduziert. Gleichzeitig wurde durch das Schließen der Stomata der Wasserverlust vermindert, was auch durch verdickte Blattepidermis-Wände, eine dickere Cuticula, durch eine Erhöhung der „leaf mass to area ratio“ und durch eine Verkleinerung der Interzellularräume erreicht wurde. Die letzten beiden Faktoren bewirkten zusammen mit dem erhöhten R_s eine Abnahme der intrazellulären CO_2 -Konzentration, eine gesteigerte Photorespiration, eine Reduktion der Nettoassimilationsrate und damit auch der Wassernutzungseffizienz (WUE). Daher ging das Pflanzenwachstum signifikant zurück; die Salztoleranzgrenze (d.h. halbmaximales Wachstum) betrug ca. $250 \text{ mol m}^{-3} \text{ NaCl}$. Die verringerte Photosyntheserate zog einen sekundären, unspezifischen Streß nach sich, nämlich eine vermehrte Belastung durch oxidativen Streß (ROS), die sich ultrastrukturell durch Aufblähungen der Thylakoidmembranen zeigte. Es wird deutlich, daß oxidativer Streß ein entscheidender Faktor für die Biomassereduktion und die begrenzte Salztoleranz von *Aster tripolium* ist und daß dessen Beseitigung eine wichtige Rolle für die Überlebensfähigkeit der Pflanze bei Hochsalz spielt; zahlreiche Reaktionen der Strandaster auf Salinität dienten der Verminderung von oxidativem Streß. So wurde die verwertbare Lichtmenge durch die verdickte Epidermisaußenwand und die verdickte Cuticula reduziert, die eine verstärkte Lichtreflexion bewirken. Eine ähnliche Funktion hat die Abnahme des Chlorophyllgehalts und der Anstieg des Chlorophyll-a/Chlorophyll-b-Verhältnisses in den adulten Blättern, denn auf diese Weise wird der Elektronenfluß durch die Photosysteme vermindert. Die Expression der antioxidativen Enzyme Superoxid-Dismutase (SOD), Ascorbat-Peroxidase (APO) und Glutathion-S-Transferase (GST) erhöhte sich bei NaCl-Salinität deutlich, so daß trotz einer Reduktion der spezifischen Aktivitäten (pro mg des jeweiligen Enzyms) aller drei Enzyme die relative Aktivität der GST konstant blieb und diejenige von SOD und APO sogar einen leichten Anstieg zeigte. Die vermehrte Akkumulation von Prolin und vom Hitzeschockprotein (HSP 20) trug ebenfalls dazu bei, ROS zu detoxifizieren. Diese beiden Substanzen können zudem andere Funktionen hinsichtlich der Salztoleranz erfüllen, wie z.B. Chaperonwirkung;

dasselbe gilt für die in den Hauptwurzeln verstärkt akkumulierten niedermolekularen Kohlenhydrate.

Erhöhte atmosphärische CO₂-Konzentration führte erwartungsgemäß zu einer deutlichen Steigerung der Nettophotosyntheserate, was bei höheren Salinitäten eine Verbesserung der WUE bewirkte. Letzteres zeigt, in Übereinstimmung mit dem höheren Wasserpotential, eine bessere Wasserversorgung der Pflanze an. Der stomatäre Widerstand wurde vermindert, was darauf hinweist, daß hinsichtlich des Gaswechsels nicht in erster Linie die Vermeidung von Wasserverlust, sondern die Reduktion der Photorespiration und die Maximierung der Photosyntheserate im Vordergrund stand. Auf diese Weise konnte oxidativer Streß vermindert werden. Die höhere Assimilationsrate hatte eine bessere Versorgung der Pflanzen mit energiereichen organischen Substanzen zur Folge, was sich in einer größeren Menge nicht-struktureller Kohlenhydrate zeigte. Diesen zusätzlichen Energiepool investierten die salzbelasteten Strandastern nicht in eine erhöhte Produktion von Biomasse, sondern in lebenserhaltende, die Salztoleranz fördernde Mechanismen, welche in erster Linie die Reduktion von oxidativem Streß bewirkte. So wurden die Blatt-Epidermisaußenwände und die Cuticula zusätzlich verdickt, mehr Carotinoide wurden synthetisiert, SOD, APO und GST wiesen erhöhte Expressionen und Aktivitäten auf, und es wurde mehr Prolin und HSP 20 akkumuliert als unter natürlich atmosphärischen Bedingungen. Als Indiz für eine geringere Belastung der Zellen durch ROS spricht, daß mehr intakte Chloroplasten mit weniger aufgeblähten Thylakoidmembranen vorhanden waren. Außer in die Beseitigung von oxidativem Streß investierte *A. tripolium* unter erhöhter atmosphärischer CO₂-Konzentration vermutlich auch vermehrt in selektive Ionen-transportprozesse, worauf die verstärkte ATPase-Expression und –aktivität hinweisen. Die eben geschilderten Mechanismen führten zu einer höheren Überlebensrate der Pflanzen bei NaCl-Salinität, d.h. zu einer verbesserten Salztoleranz. Die Ergebnisse der Studie sprechen dafür, daß es sich bei *Aster tripolium* um einen vielversprechenden „cash-crop“-Halophyten handelt, der in seiner Verbreitung von einem zukünftig steigenden atmosphärischen CO₂-Gehalt vermutlich profitieren wird. Seine nachhaltige dauerhafte Nutzung kann dazu beitragen, dem globalen Klimawandel und dessen Folgen entgegenzuwirken und die Lebensgrundlage der Menschen in ariden Klimazonen zu sichern.

6 LITERATURVERZEICHNIS

- Abbasi, F.M. & Komatsu, S. (2004): A proteomics approach to analyze salt-responsive proteins in rice leaf sheath. *Proteomics* **4**, 2072-2081.
- Adams, M.A., Richter, A., Hill, A.K. & Colmer, T.D. (2005): Salt tolerance in *Eucalyptus* spp.: identity and response of putative osmolytes. *Plant Cell Environ.* **28**, 772-787.
- Agastian, P., Kingsley, S.J. & Vivekanandan, M. (2000): Effect of salinity on photosynthesis and biochemical characteristics in mulberry genotypes. *Photosynthetica* **38**, 287-290.
- Amthor, J.S. (1999): Increasing atmospheric CO₂ concentration, water use and water stress: scaling up from the plant to the landscape. In: Luo, Y. & Mooney, H.A. (Hrsg.): Carbon dioxide and environmental stress. Academic press, San Diego, London. S. 33-59.
- Andjelković, V. & Thompson, R. (2006): Changes in gene expression in maize kernel in response to water and salt stress. *Plant Cell Rep.* **25**, 71-79.
- Anžlovar, S. & Dermastia, M. (2003): The comparative analysis of osmotins and osmotin-like PR-5 proteins. *Plant Biol.* **5**, 116-124.
- Apse, M.P., Aharon, G.S., Snedden, W.A. & Blumwald, E. (1999): Salt tolerance conferred by overexpression of a vacuolar Na⁺/H⁺ antiport in *Arabidopsis*. *Science* **285**, 1256-1258.
- Arnalds, A. (2004): Carbon sequestration and the restoration of land health. An example from Iceland. *Climatic Change* **65**, 333-346.
- Arp, W.J., Drake, B.G., Pockman, W.T., Curtis, P.S. & Whigham, D.F. (1993): Interaction between C₃ and C₄ salt marsh species during four years of exposure to elevated atmospheric CO₂. *Vegetatio* **104/105**, 133-143.
- Arshi, A., Abdin, M.Z. & Iqbal, M. (2002): Growth and metabolism of senna as affected by salt stress. *Biol. Plant.* **45**, 295-298.
- Asada, K. (1992): Ascorbate peroxidase – hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. *Physiol. Plant.* **85**, 235-241.
- Ashraf, M., Hameed, M., Arshad, M., Ashraf, Y. & Akhtar, K. (2006): Salt tolerance of some potential forage grasses from Cholistan Desert of Pakistan. In: Khan, M.A. & Weber, D.J. (Hrsg.): Ecophysiology of high salinity tolerant plants. Tasks for vegetation science 40. Springer Verlag, Dordrecht. S. 31-54.
- Aslam, Z., Bhatti, A.S. & Mujtabe, M. (1999): *Aster tripolium*: A winter forage : Introduction for salt-affected soils. In: Hamdy, A., Lieth, H., Todorovic, M. & Moschenko, M. (Hrsg.): Halophyte uses in different climates II. Halophyte crop development: Pilot studies. Progress in Biometeorology 13. Backhuys Publishers, Leiden. S. 95-103.
- Ayala, F., O'Leary, J. & Schumaker, K.S. (1996): Increased vacuolar and plasma membrane H⁺-ATPase activities in *Salicornia bigelovii* Torr. in response to NaCl. *J. Exp. Bot.* **46**, 25-32.
- Aziz, A., Martin-Tanguy, J. & Larher, F. (1999): Salt stress-induced proline accumulation and changes in tyramine and polyamine levels are linked to ionic adjustment in tomato leaf discs. *Plant Sci.* **145**, 83-91.
- Baczek-Kwinta, R. & Kościelniak, J. (2003): Anti-oxidative effect of elevated CO₂ concentration in the air on maize hybrids subjected to severe chill. *Photosynthetica* **41**, 161-165.
- Bae, H. & Sicher, R. (2004): Changes of soluble protein expression and leaf metabolite levels in *Arabidopsis thaliana* grown in elevated atmospheric carbon dioxide. *Field Crops Res.* **90**, 61-73.
- Bajji, M., Kinet, J.-M., & Lutts, S. (1998): Salt stress effects on roots and leaves of *Atriplex halimus* L. and their corresponding callus cultures. *Plant Sci.* **137**, 131-142.
- Ball, M.C. & Munns, R. (1992): Plant responses to salinity under elevated atmospheric concentrations of CO₂. *Aust. J. Bot.* **40**, 515-525.
- Ball, M.C., Cochrane, M.J. & Rawson, H.M. (1997): Growth and water use of the mangroves *Rhizophora apiculata* and *R. stylosa* in response to salinity and humidity under ambient and elevated concentrations of atmospheric CO₂. *Plant Cell Environ.* **20**, 1158-1166.
- Beauchamp, C. & Fridovich, I. (1971): Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Anal. Biochem.* **44**, 276-287.

- Ben Amor, N., Ben Hamed, K., Debez, A., Grignon, C. & Abdelly, C. (2005): Physiological and antioxidant responses of the perennial halophyte *Crithmum maritimum* to salinity. *Plant Sci.* **168**, 889-899.
- Ben-Asher, J. (1993): A simplified model of integrated water and solute uptake by salts and selenium accumulating plants. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **58**, 1012-1016.
- Berkelman, T. & Stenstedt, T. (2002): 2-D electrophoresis using immobilized pH gradients. Principles and methods. Amersham Biosciences AB, Uppsala.
- Berthomieu, P., Conéjéro, G., Nublat, A., Brackenbury, J., Lambert, C., Savio, C., Uozumi, N., Oiki, S., Yamada, K., Cellier, F., Gosti, F., Simonneau, T., Essah, P.A., Tester, M., Véry, A.A., Sentenac, H. & Casse, F. (2003): Functional analysis of *AtHKT1* in *Arabidopsis* shows that Na⁺ recirculation by the phloem is crucial for salt tolerance. *EMBO J.* **22**, 2004-2014.
- Binzel, M. & Ratajczak, R. (2002): Function of membrane transport systems under salinity: tonoplast. In: Läuchli, A. & Lüttge, U. (Hrsg.): Salinity: environment – plants – molecules. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. S. 423-449.
- Bjellqvist, B., Ek, K., Righetti, P.G., Gianazza, E., Görg, A., Westermeier, R. & Postel, W. (1982): Isoelectric focusing in immobilized pH gradients. principle, methodology and some applications. *J. Biochem. Biophys. Methods* **6**, 317-339.
- Blokhina, O., Virolainen, E. & Fagerstedt, K.V. (2003): Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Ann. Bot.* **91**, 179-194.
- Blumwald, E., Aharon, G.S. & Apse, M.P. (2000): Sodium transport in plant cells. *Biochim. Biophys. Acta* **1465**, 140-151.
- Boehringer Mannheim GmbH (o.J.): Arbeitsanleitung zur Test-Kombination Saccharose/D-Glucose/D-Fructose. Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim.
- Boer & Gliddon, D. (1998): Mapping of coastal ecosystems and halophytes (case study of Abu Dhabi, United Arab Emirates). *Mar. Freshw. Res.* **49**, 297-301.
- Bogemans, J. (2000): ScropS nv, a spin-off company. Bringing plant science into practice. Präsentation auf dem „cashcrop halophytes CA-Symposium“ in Osnabrück. Eigendruck.
- Bogemans, J., Huiskes, A.H.L. & Nieuwenhuize, J. (1995): Optimising fertilization and culture methods of *Aster tripolium*. A saline crop. In: Huiskes, A.H.L. (Hrsg.): Saline Crops. A contribution to the diversification of the production of vegetable crops by research on the cultivation methods and selection of halophytes. EC-AIR-project, annual report 1995. Eigendruck.
- Bohannon, J. (2006): Running out of water – and time. *Science* **313**, 1085-1087.
- Boughanmi, N., Michonneau, P., Verdus, M.-C., Piton, F., Ferjani, E., Bizid, E. & Fleurat-Lessard, P. (2003): Structural changes induced by NaCl in companion and transfer cells of *Medicago sativa* blades. *Protoplasma* **220**, 179-187.
- Bozzola, J.J. & Russell, L.D. (1999): Electron Microscopy: Principles and techniques for biologists. Jones and Bartlett Publishers, Boston, 2. Aufl.
- Bradford, M.M. (1976): A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **72**, 248-254.
- Bray, D.F. & Wagnaar, E.B. (1978): A double staining technique for improved contrast of thin sections from Spurr-embedded tissue. *Can. J. Bot.* **56**, 129-132.
- Busch, W., Wunderlich, M. & Schöffl, F. (2005): Identification of novel heat shock factor-dependent genes and biochemical pathways in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* **41**, 1-14.
- Cacador, I., Costa, L. & Vale, C. (2002): The importance of halophytes in carbon cycling in salt marshes. In: Xiaojing, L. & Lieth, H. (Hrsg.): Halophyte utilization and regional sustainable development of agriculture. Eigendruck, Peking. S. 199.
- Carvalho, L.C. & Amâncio, S. (2002): Antioxidant defence system in plantlets transferred from in vitro to ex vivo: effects of increasing light intensity and CO₂ concentration. *Plant Sci.* **162**, 33-40.
- Casanova Katny, M.A., Hoffmann-Thoma, G., Schrier, A.A., Fangmeier, A., Jäger, H.-J. & van Bel, A.J.E. (2005): Increase of photosynthesis and starch in potato under elevated CO₂ is dependent on leaf age. *J. Plant Physiol.* **162**, 429-438.
- Chen, K., Hu, G., Keutgen, N., Janssens, M.J.J. & Lenz, F. (1999): Effects of NaCl salinity and CO₂ enrichment on pepino (*Solanum muricatum* Ait.). I. Growth and yield. *Sci. Hortic.* **81**, 25-41.
- Choukr-Allah, R. (1996): The potential of halophytes in the development and rehabilitation of arid and semi-arid zones. In: Choukr-Allah, R., Malcolm, C.V. & Hamdy, A. (Hrsg.): Halophytes and biosaline agriculture. Marcel Dekker Inc., New York, Basel, Hongkong. S. 3-13.

- Choukr-Allah, R. & Harrouni, M.C. (1996): The potential use of halophytes under saline irrigation in Morocco (abstract). In: Symposium on the conservation of mangal ecosystems in Al Ain, Vereinigte Arabische Emirate. Eigendruck. S. 15-17.
- Christian, R. (2005): Interactive effects of salinity and irradiance on photoprotection in acclimated seedlings of two sympatric mangroves. *Trees* **19**, 596-606.
- Cuartero, J., Pulido, J.M., Gómez-Guillamón, M.L. & Álvarez, M. (2002): Salt removal potential of barley, alfalfa, *Atriplex patula* and *A. prostrata*. In: Aksoy, U., Anac, D., Anac, S., Beltrao, J., Ben-Asher, J., Cuartero, J., Flowers, T.J. & Hepaksoy, S. (Hrsg.): Proceedings of the international symposium on techniques to control salination for horticultural productivity. Acta Hort. 573. Drukkerij Geers, Gent-Oostakker. S. 387-406.
- Daoud, S. (2004): Effet de l'irrigation à l'eau de mer sur les paramètres agronomiques et physiologiques de quelques espèces de plantes halophytes. Dissertation, Universität Ibnou Tofail, Kenitra, Marokko.
- Daoud, S., Koyro, H.-W. & Harrouni, M.C. (2003): Salinity tolerance of *Beta vulgaris* ssp. *maritima*. Part I. Biomass production and osmotic adjustment. In : Lieth, H. & Mochtchenko, M. (Hrsg.): Cash crop halophytes: Recent studies. Tasks for vegetation science 38. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. S. 41-49.
- De Wrachien, D., Ragab, R. & Giordano, A. (2002): Climate change impact on land degradation and desertification in the european mediterranean region. The role of the international cooperation. Key-note paper der „international conference on drought mitigation and prevention of land desertification“, Bled, Slovenien.
Erhältlich online unter <http://www.wg-crop.icidonline.org/3doc.pdf>.
- Debez, A., Ben Hamed, K. & Abdelly, C. (2003a): Some physiological and biochemical aspects of salt tolerance in two oleaginous halophytes: *Cakile maritima* and *Crithmum maritimum*. In : Lieth, H. & Mochtchenko, M. (Hrsg.): Cash crop halophytes: Recent studies. Tasks for vegetation science 38. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. S. 31-39.
- Debez, A., Chaibi, W. & Bouzid, S. (2003b): Physiological responses and structural modifications in *Atriplex halimus* L. plants exposed to salinity. In : Lieth, H. & Mochtchenko, M. (Hrsg.): Cash crop halophytes: Recent studies. Tasks for vegetation science 38. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. S. 19-30.
- Debez, A., Saadaoui, D., Ramani, B., Ouerghi, Z., Koyro, H.-W., Huchzermeyer, B. & Abdelly, C. (2006): Leaf H⁺-ATPase activity and photosynthetic capacity of *Cakile maritima* under increasing salinity. *Environ. Exp. Bot.* **57**, 285-295.
- Delfine, S., Alvino, A., Villani, M.C. & Loreto, F. (1999): Restrictions to carbon dioxide conductance and photosynthesis in spinach leaves recovering from salt stress. *Plant Physiol.* **119**, 1101-1106.
- Dell'Aquila, A. (2004): Protein patterns, characterized by computer image analysis, of lentil embryo axes germinating under salt stress. *Biol. Plant.* **48**, 237-242.
- Deutsche Stiftung Weltbevölkerung (2005): Datenreport 2005. Erhältlich online unter http://www.dsw-online.de/pdf/dsw_datenreport_05.pdf.
- Dickson, R.E., Coleman, M.D., Pechter, P. & Karnosky, D. (2001): Growth and crown architecture of two aspen genotypes exposed to interacting ozone and carbon dioxide. *Environ. Pollut.* **115**, 319-334.
- Dietz, K.J., Tavakoli, N., Kluge, C., Mimura, T., Sharma, S.S., Harris, G.C., Chardonnens, A.N. & Goldack, D. (2001): Significance of the V-type ATPase for the adaptation to stressed growth conditions and its regulation on the molecular and biochemical level. *J. Exp. Bot.* **52**, 1969-1980.
- Donnelly, A., Jones, M.B., Burke, J.I. & Schnieders, B. (1999): Does elevated CO₂ protect grain yield of wheat from the effects of ozone stress? *Z. Naturforsch.* **54c**, 802-811.
- Drake, B.G., Gonzalez-Meler, M.A. & Long, S.P. (1997): More efficient plants. a consequence of rising atmospheric CO₂? *Annu. Rev. Plant Physiol.* **48**, 609-639.
- Einarsson, F., Josefsson, B. & Lagerkvist, S. (1983): Determination of amino acids with 9-fluorenylmethyl chloroformate and reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* **282**, 609-618.
- Engloner, A.I., Kovacs, D., Balogh, J. & Tuba, Z. (2003): Anatomical and eco-physiological changes in leaves of couch-grass (*Elymus repens* L.), a temperate loess grassland species, after 7 years growth under elevated CO₂ concentration. *Photosynthetica* **41**, 185-189.
- Epstein, E. (1972): Mineral nutrition of plants: principles and perspectives. Wiley, New York.

- Epstein, E. (1980): Responses of plants to saline environments. In: Rains, D.W., Valentine, R.C. & Hollaender, A. (Hrsg.): Genetic engineering of osmoregulation. Plenum Press, New York. S. 7-21.
- Everard, J.D., Gucci, R., Kahn, S.C., Flore, A.J. & Loescher, W.H. (1994): Gas exchange and carbon partitioning in the leaves of celery (*Apium graveolens* L.) at various levels of root zone salinity. *Plant Physiol.* **106**, 281-292.
- Expert Protein Analysis System (o.J.a): Informationen erhältlich online unter <http://www.expasy.org/uniprot/Q05431>.
- Expert Protein Analysis System (o.J.b): Informationen erhältlich online unter <http://www.expasy.org/uniprot/P10708>.
- Fangmeier, A., Stein, W. & Jäger, H.-J. (1992): Advantages of an open-top chamber plant exposure system to assess the impact of atmospheric trace gases on vegetation. *Angew. Bot.* **66**, 97-105.
- Fangmeier, A. & Jäger, H.-J. (2001): Wirkungen erhöhter CO₂-Konzentrationen. In: Guderian, R. (Hrsg.): Handbuch der Umweltveränderungen und Ökotoxikologie. Band 2a: Terrestrische Ökosysteme: Immissionsökologische Grundlagen - Wirkungen auf Boden - Wirkungen auf Pflanzen. Springer Verlag, Berlin. S. 382-433.
- Feddema, J.J. (1999): Future african water resources: Interactions between soil degradation and global warming. *Climatic Change* **42**, 561-596.
- Fernandes, F.M., Arrabaca, M.C. & Carvalho, L.M.M. (2004): Sucrose metabolism in *Lupinus albus* L. under salt stress. *Biol. Plant.* **48**, 317-319.
- Fidalgo, F., Santos, A., Santos, I. & Salema, R. (2004): Effects of long-term salt stress on antioxidant defence systems, leaf water relations and chloroplast ultrastructure of potato plants. *Ann. Appl. Biol.* **145**, 185-192.
- Fisarakis, I., Chartzoulakis, K. & Stavrakas, D. (2001): Response of sultana vines (*V. vinifera* L.) on six rootstocks to NaCl salinity and recovery. *Agric. Water Manage.* **51**, 13-27.
- Flohé, L. & Ötting, F. (1984): Superoxide dismutase assays. *Methods Enzymol.* **105**, 93-104.
- Flowers, T.J. (1999): Salinization and horticultural production. *Scientia Hort.* **78**, 1-4.
- Flowers, T.J. (2004): Improving crop salt tolerance. *J. Exp. Bot.* **55**, 307-319.
- Flowers, T.J. & Yeo, A.R. (1986): Ion relations of plants under drought and salinity. *Aust. J. Plant Physiol.* **13**, 75-91.
- Flowers, T.J., Hajibagheri, M.A. & Yeo, A.R. (1991): Ion accumulation in the cell wall of rice plants growing under saline conditions: evidence for the Oertli hypothesis. *Plant Cell Environ.* **14**, 319-325.
- Foyer, C.H. & Halliwell, B. (1976): The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism. *Planta* **133**, 21-25.
- Fricke, W. & Pahlich, E. (1990): The effect on water stress on the vacuole-extravacuole compartmentation of proline in potato cell suspension cultures. *Physiol. Plant.* **78**, 374-378.
- Gadallah, M.A.A. (1999): Effects of proline and glycinebetaine on *Vicia faba* responses to salt stress. *Biol. Plant.* **42**, 249-257.
- Garratt, L.C., Janagoudar, B.S., Lowe, K.C., Anthony, P., Power, J.B. & Davey, M.R. (2002): Salinity tolerance and antioxidant status in cotton cultures. *Free Radic. Biol. Med.* **33**, 502-511.
- Gaxiola, R.A., Li, J., Undurraga, S., Dang, L.M., Allen, G.J., Alper, S.L. & Fink, G.R. (2001): Drought- and salt-tolerant plants result from overexpression of the AVP1 H⁺-pump. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **98**, 11444-11449.
- Geißler, N. (2000): Untersuchungen zur Struktur der Atemwurzeln von *Laguncularia racemosa* Gaertn. f. (Combretaceae). Diplomarbeit, Justus-Liebig-Universität, Gießen.
- Ghali, F.M. (2002): Role of natural vegetation in improving salt affected soil in northern Egypt. *Soil Tillage Res.* **64**, 173-178.
- Ghassemi, F., Jakeman, A.J. & Nix, H.A. (1995): Salinisation of land and water resources. University of New South Wales Press Ltd, Canberra.
- Gleeson, D., Lelu-Walter, M.A. & Parkinson, M. (2005): Overproduction of proline in transgenic hybrid larch (*Larix x leptoeuropaea* (Dengler)) cultures renders them tolerant to cold, salt and frost. *Mol. Breeding* **15**, 21-29.
- Glenn, E.P., Brown, J.J. & O'Leary, J.W. (1998): Irrigating crops with sea water. *Sci. Am.* August 1998, 76-81.
- Glenn, E.P., Brown, J.J. & Blumwald, E. (1999): Salt tolerance and crop potential of halophytes. *Crit. Rev. Plant Sci.* **18**, 227-255.

- Goas, G., Goas, M. & Larher, F. (1982): Accumulation of free proline and glycine betaine in *Aster tripolium* subjected to a saline shock: A kinetic study related to light period. *Physiol. Plant.* **55**, 383-388.
- Görg, A., Postel, W., Günther, S. & Weser, J. (1985): Improved horizontal two-dimensional electrophoresis with hybrid isoelectric focusing in immobilized pH gradients in the first dimension and laying-on transfer to the second dimension. *Electrophoresis* **6**, 599-604.
- Görg, A., Postel, W. & Günther, S. (1988): The current state of two-dimensional electrophoresis with immobilized pH gradients. *Electrophoresis* **9**, 531-546.
- Gouk, S.S., He, J. & Hew, C.S. (1999): Changes in photosynthetic capability and carbohydrate production in an epiphytic CAM orchid plantlet exposed to super-elevated CO₂. *Environ. Exp. Bot.* **41**, 219-230.
- Greenway, H. & Munns, R. (1980): Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **31**, 149-190.
- Grime, J.P. (1977): Evidence for the existence of three primary strategies and its relevance to ecological and evolutionary theory. *Amer. Natur.* **111**, 1169-1194.
- Gulzar, S. & Khan, M.A. (2006): Comparative salt tolerance of perennial grasses. In: Khan, M.A. & Weber, D.J. (Hrsg.): *Ecophysiology of high salinity tolerant plants. Tasks for vegetation science* 40. Springer Verlag, Dordrecht. S. 239-253.
- Günther, S. (2004): Konsequenzen der Expression eines Transportproteins des Kartoffelblattrollvirus in transgenen Kartoffelpflanzen (*Solanum tuberosum* L.). Physiologische, strukturelle und morphogenetische Auswirkungen eines einzigen Gens. Dissertation, Justus-Liebig-Universität, Gießen.
- Güth, M. (2001): Halophyte uses in different climates III. Computer-aided analysis of socio-economic aspects of the sustainable utilisation of halophytes. *Progress in Biometeorology* 15. Backhuys Publishers, Leiden.
- Habig, W.H. & Jakoby, W.B. (1981): Assays for differentiation of Glutathione S-transferases. *Methods Enzymol.* **77**, 398-405.
- Hajheidari, M., Abdollahian-Noghabi, M., Askari, H., Heidari, M., Sadeghian, S.Y., Ober, E.S. & Salekdeh, G.H. (2005): Proteome analysis of sugar beet leaves under drought stress. *Proteomics* **5**, 950-960.
- Hall, J.L. (1971): Cytochemical localization of ATPase activity in plant root cells. *J. Microsc.* **93**, 219-225.
- Halliwell, B. (1987): Oxidative damage, lipid peroxidation and antioxidant protection in chloroplasts. *Chem. Phys. Lipids* **44**, 327-340.
- Hamada, A., Shono, M., Xia, T., Ohta, M., Hayashi, Y., Tanaka, A. & Hayakawa, T. (2001): Isolation and characterization of a Na⁺/H⁺ antiporter gene from the halophyte *Atriplex gmelini*. *Plant Mol. Biol.* **46**, 35-42.
- Hamdy, A. (2002): Sustainable use and management of non-conventional water resources in the arid regions. In: Aksoy, U., Anac, D., Anac, S., Beltrao, J., Ben-Asher, J., Cuartero, J., Flowers, T.J. & Hepaksoy, S. (Hrsg.): *Proceedings of the international symposium on techniques to control salination for horticultural productivity. Acta Hort.* 573. Drukkerij Geers, Gent-Oostakker. S. 159-174.
- Harrouni, M.C., Daoud, S. & Koyro, H.-W. (2003): Effect of seawater irrigation on biomass production and ion composition of seven halophytic species in Morocco. In: Lieth, H. & Mochtkchenko, M. (Hrsg.): *Cash crop halophytes: Recent studies. Tasks for vegetation science* 38. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. S. 59-70.
- Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., Zhu, J.-K. & Bohnert, H.J. (2000): Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **51**, 463-499.
- He, C., Yan, J., Shen, G., Fu, L., Holaday, A.S., Auld, D., Blumwald, E. & Zhang, H. (2005): Expression of an *Arabidopsis* vacuolar sodium/proton antiporter gene in cotton improves photosynthetic performance under salt conditions and increases fiber yield in the field. *Plant Cell Physiol.* **46**, 1848-1854.
- Hernández, J.A. & Almansa, M.S. (2002): Short-term effects of salt stress on antioxidant systems and leaf water relations of pea leaves. *Physiol. Plant.* **115**, 251-257.

- Hikosaka, K., Onoda, Y., Kinugasa, T., Nagashima, H., Anten, N.P.R. & Hirose, T. (2005): Plant responses to elevated CO₂ concentration at different scales: leaf, whole plant, canopy, and population. *Ecol. Res.* **20**, 243-253.
- Hogarth, P.J. (1999): The biology of mangroves. Oxford University Press, Oxford, New York.
- Högy, P. (2002): Wirkungen erhöhter CO₂- und/oder Ozonkonzentrationen auf den Ertrag und die Qualität landwirtschaftlicher Nutzpflanzen. Dissertation, Justus-Liebig-Universität, Gießen.
- Hsiao, T.C. & Jackson, R.B. (1999): Interactive effects of water stress and elevated CO₂ on growth, photosynthesis, and water use efficiency. In: Luo, Y. & Mooney, H.A. (Hrsg.): Carbon dioxide and environmental stress. Academic Press, San Diego, London. S. 3-31.
- Hu, Y.C. & Schmidhalter, U. (2005): Drought and salinity: A comparison of their effects on mineral nutrition of plants. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* **168**, 541-549.
- Huang, W., Fang, X.D., Li, G.Y., Lin, Q.F. & Zhao, W.M. (2004): Cloning and expression analysis of salt responsive genes from *Kandelia candel*. *Biol. Plant.* **47**, 501-507.
- Huchzermeyer, B., Hausmann, F., Paquet-Durant, F. & Koyro, H.-W. (2004): Biochemical and physiological mechanisms leading to salt tolerance. *Trop. Ecol.* **45**, 141-150.
- Huchzermeyer, B. & Koyro, H.-W. (2005): Salt and drought stress effects on photosynthesis. In: Pessaraki, M. (Hrsg.): Handbook of photosynthesis. CRC Press, Taylor & Francis Publishing Company, Florida, 2. Aufl. S. 751-777.
- Huiskes, A.H.L. (1994): Saline Crops. A contribution to the diversification of the production of vegetable crops by research on the cultivation methods and selection of halophytes. EC-AIR-project, periodic report 1/1/1994-30/6/1994. Eigendruck.
- Huiskes, A.H.L. (1996a): Saline Crops. A contribution to the diversification of the production of vegetable crops by research on the cultivation methods and selection of halophytes. EC-AIR-project, annual report 1996. Eigendruck.
- Huiskes, A.H.L. (1996b): Saline Crops. A contribution to the diversification of the production of vegetable crops by research on the cultivation methods and selection of halophytes. EC-AIR-project, periodic report 1/1/1996-30/6/1996. Eigendruck.
- Huiskes, A.H.L., van Soelen, J. & Markusse, M.M. (1991): Differentiation within *Aster tripolium* L. from tidal and non-tidal habitats. *Aquat. Bot.* **39**, 35-44.
- Idso, K.E. & Idso, S.B. (1994): Plant responses to atmospheric CO₂ enrichment in the face of environmental constraints: a review of the past 10 years' research. *Agric. For. Meteorol.* **69**, 153-203.
- Idso, S.B. & Idso, K.E. (2001): Effects of atmospheric CO₂ enrichment on plant constituents related to animal and human health. *Environ. Exp. Bot.* **45**, 179-199.
- Ignatova, L.K., Novichkova, N.S., Mudrik, V.A., Lyubimov, V.Y., Ivanov, B.N. & Romanova, A.K. (2005): Growth, photosynthesis, and metabolism of sugar beet at an early stage of exposure to elevated CO₂. *Russ. J. Plant Physiol.* **52**, 158-164.
- Immel, K.-A. (2006): Weltweit geht immer mehr Ackerland verloren. Erhältlich online unter <http://www.welthungerhilfe.de/992.html>.
- IPCC (2001): IPCC third assessment report. Climate change 2001. Erhältlich online unter <http://www.ipcc.ch>.
- Jäger, H.-J. & Meyer, H. R. (1977): Effect of water stress on growth and proline metabolism of *Phaseolus vulgaris* L. *Oecologia* **30**, 83-96.
- Jain, M., Mathur, G., Koul, S. & Sarin, N.B. (2001): Ameliorative effects of proline on salt stress-induced lipid peroxidation in cell lines of groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Plant Cell Rep.* **20**, 463-468.
- Jakoby, W.B. (1985): Glutathione transferases: An overview. *Methods Enzymol.* **113**, 495-499.
- Karnovsky, M.J. (1965): A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *J. Cell Biol.* **27**, 137A.
- Kav, N.N.V., Srivastava, S., Goonewardene, L. & Blade, S.F. (2004): Proteome-level changes in the roots of *Pisum sativum* in response to salinity. *Ann. Appl. Biol.* **145**, 217-230.
- Keetmann, U. (2000): Untersuchungen zu den Folgen der Photosensibilisierung durch akkumulierende Tetrapyrrole in transgenen Tabakpflanzen. Dissertation, Humboldt-Universität, Berlin.
- Kefu, Z., Hai, F., San, Z. & Jie, S. (2003): Study on the salt and drought tolerance of *Suaeda salsa* and *Kalanchoe claigremontiana* under iso-osmotic salt and water stress. *Plant Sci.* **265**, 837-844.

- Keiper, F.J., Chen, D.M. & De Filippis, L.F. (1998): Respiratory, Photosynthetic and ultrastructural changes accompanying salt adaptation in culture of *Eucalyptus microcorys*. J. Plant Physiol. **152**, 564-573.
- Kerstiens, G., Tych, W., Robinson, M.F. & Mansfield, T.A. (2002): Sodium-related partial stomatal closure and salt tolerance of *Aster tripolium*. New Phytol. **153**, 509-515.
- Khan, A., Ungar, I.A. & Showalter, A.M. (2000a): The effect of salinity on the growth, water status, and ion content of a leaf succulent perennial halophyte, *Suaeda fruticosa* (L.) Forssk. J. Arid Environ. **45**, 73-84.
- Khan, M.A., Ungar, I.A. & Showalter, A.M. (2000b): Effects of salinity on growth, water relations and ion accumulation of the subtropical perennial halophyte, *Atriplex griffithii* var. *stocksii*. Ann. Bot. **85**, 225-232.
- Khedr, A.H.A., Abbas, M.A., Wahid, A.A.A., Quick, W.P. & Abogadallah, G.M. (2003): Proline induces the expression of salt-responsive proteins and may improve the adaptation of *Pancreaticum maritimum* L. to salt stress. J. Exp. Bot. **54**, 2553-2562.
- Kimball, B.A., Kobayashi, K. & Bindi, M. (2002): Responses of agricultural crops to free-air CO₂ enrichment. Adv. Agron. **77**, 293-368.
- Kirschbaum, M.U.F. (2004): Direct and indirect climate change effects on photosynthesis and transpiration. Plant Biol. **6**, 242-253.
- Kleber, H.P., Schlee, D. & Schöpp, W. (1987): Biochemisches Praktikum. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
- Kluge, C., Lamkemeyer, P., Tavakoli, N., Golldack, G., Kandlbinder, A. & Dietz, K.-J. (2003): cDNA cloning of 12 subunits of the V-type ATPase from *Mesembryanthemum crystallinum* and their expression under stress. Mol. Membr. Biol. **20**, 171-183.
- Köhl, K.I. (1997): The effect of NaCl on growth, dry matter allocation and ion uptake in salt marsh and inland populations of *Armeria maritima*. New Phytol. **135**, 213-225.
- Koyro, H.-W. (1997): Ultrastructural and physiological changes in root cells of Sorghum plants (*Sorghum bicolor* x *S. sudanensis* cv. Sweet Sioux) induced by NaCl. J. Exp. Bot. **48**, 693-706.
- Koyro, H.-W. (2000a): Untersuchungen zur Anpassung der Wildrübe (*Beta vulgaris* ssp. *maritima*) an Trockenstress oder NaCl-Salinität. Habilitation, Justus-Liebig-Universität, Gießen.
- Koyro, H.-W. (2000b): Effect of high NaCl-salinity on plant growth, leaf morphology, and ion composition in leaf tissues of *Beta vulgaris* ssp. *maritima*. J. Appl. Bot. **74**, 67-73.
- Koyro, H.-W. (2002): Ultrastructural effects of salinity in higher plants. In: Läuchli, A. & Lüttge, U. (Hrsg.): Salinity: environment – plants – molecules. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. S. 139-157.
- Koyro, H.-W. (2003): Study of potential cash crop halophytes by a quick check system: Determination of the threshold of salinity tolerance and the ecophysiological demands. In: Lieth, H. & Mochtkchenko, M. (Hrsg.): Cash crop halophytes: Recent studies. Tasks for vegetation science 38. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. S. 5-17.
- Koyro, H.-W. (2006): Effect of salinity on growth, photosynthesis, water relations and solute composition of the potential cash crop halophyte *Plantago coronopus* (L.). Environ. Exp. Bot. **56**, 136-146.
- Koyro, H.-W., Stelzer, R. & Huchzermeyer, B. (1993): ATPase activities and membrane fine structure of rhizodermal cells from *Sorghum* and *Spartina* roots grown under mild salt stress. Bot. Acta **106**, 110-119.
- Koyro, H.-W. & Huchzermeyer, B. (1999a): Influence of high NaCl-salinity on growth, water and osmotic relations of the halophyte *Beta vulgaris* ssp. *maritima*. Development of a quick check. In: Lieth, H., Moschenko, M., Lohmann, M., Koyro, H.-W. & Hamdy, A. (Hrsg.): Halophyte uses in different climates I. Ecological and ecophysiological studies. Progress in Biometeorology 13. Backhuys Publishers, Leiden. S. 87-101.
- Koyro, H.-W. & Huchzermeyer, B. (1999b): Salt and drought stress effects on metabolic regulation in maize. In: Pessaraki, M. (Hrsg.): Handbook of plant and crop stress. Marcel Dekker Inc., New York, 2. Aufl. S. 843-878.
- Koyro, H.-W. & Huchzermeyer, B. (2003): Ecophysiological mechanisms leading to salinity tolerance: Screening of cashcrop halophytes. Recent Res. Devel. Plant Sci. **1**, 187-207.
- Koyro, H.-W. & Huchzermeyer, B. (2004): Ecophysiological needs of the potential biomass crop *Spartina townsendii* Grov. Trop. Ecol. **45**, 123-139.

- Koyro, H.-W., Geißler, N., Hussin, S. & Huchzermeyer, B. (2006): Mechanisms of cash crop halophytes to maintain yields and reclaim saline soils in arid areas. In: Khan, M.A. & Weber, D.J. (Hrsg.): Ecophysiology of high salinity tolerant plants. Tasks for vegetation science 40. Springer Verlag, Dordrecht. S. 345-366.
- Kreeb, K.H. (1996): Salzstreß. In: Brunold, C., Rügsegger, A. & Brändle, R. (Hrsg.): Streß bei Pflanzen. Uni-Taschenbücher GmbH, Stuttgart, Bern, Wien. S. 149-172.
- Kukreja, S., Nandwal, A.S., Kumar, N., Sharma, S.K., Unvi, V. & Sharma, P.K. (2005): Plant water status, H₂O₂ scavenging enzymes, ethylene evolution and membrane integrity of *Cicer arietinum* roots as affected by salinity. Biol. Plant. **49**, 305-308.
- Kurban, H., Saneoka, H., Nehira, K., Adilla, R., Premachandra, G.S. & Fujita, K. (1999): Effect of salinity on growth, photosynthesis and mineral composition in leguminous plant *Alhagi pseudoalhagi* (Bieb.). Soil Sci. Plant Nutr. **45**, 851-862.
- Kurkova, E.B., Kalinkina, L.G., Baburina, O.K., Myasoedov, N.A. & Naumova, T.G. (2002): Responses of *Seidlitzia rosmarinus* to salt stress. Biol. Bullt. **29**, 221-228.
- Laemmli, U.K. (1970): Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature **227**, 680-685.
- Laitinen, K., Luomala, E.-M., Kellomäki, S. & Vapaavuori, E. (2000): Carbon assimilation and nitrogen in needles of fertilized and unfertilized field-grown Scots pine at natural and elevated concentrations of CO₂. Tree Physiol. **20**, 881-892.
- Lal, R. (2001): Potential of desertification control to sequester carbon and mitigate the greenhouse effect. Climatic Change **51**, 35-72.
- Larcher, W. (2001): Ökophysiologie der Pflanzen. Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart, 6. Aufl.
- Lee, H., Lee, J.S., Bae, E.K., Choi, Y.I. & Noh, E.W. (2005): Differential expression of a poplar copper chaperone gene in response to various abiotic stresses. Tree Physiol. **25**, 395-401.
- Lenssen, G.M. & Rozema, J. (1990): The effects of atmospheric CO₂-enrichment and salinity on growth, photosynthesis and water relations of some salt marsh species. In: Goudriaan, J., van Keulen, H. & van Laar, H.H. (Hrsg.): The greenhouse effect and primary productivity in European agro-ecosystems. Pudoc, Wageningen. S. 64-67.
- Lenssen, G.M., Lamers, J., Stroetenga, M. & Rozema, J. (1993): Interactive effects of atmospheric CO₂ enrichment, salinity and flooding on growth of C₃ (*Elymus athericus*) and C₄ (*Spartina anglica*) salt marsh species. Vegetatio 104/105, 379-388.
- Lenssen, G.M., van Duin, W.E., Jak, P. & Rozema, J. (1995): The response of *Aster tripolium* and *Puccinellia maritima* to atmospheric carbon dioxide enrichment and their interactions with flooding and salinity. Aquat. Bot. **50**, 181-192.
- Li, J.-H., Sagi, M., Gale, J., Volokita, M. & Novoplanski, A. (1999a): Response of tomato plants to saline water as affected by carbon dioxide supplementation. I. Growth, yield and fruit quality. J. Hortic. Sci. Biotechnol. **74**, 232-237.
- Li, J.-H., Gale, J., Novoplanski, A., Barak, S. & Volokita, M. (1999b): Response of tomato plants to saline water as affected by carbon dioxide supplementation. II. Physiological responses. J. Hortic. Sci. Biotechnol. **74**, 238-242.
- Li, J.-H., Dugas, W.A., Hymus, G.J., Johnson, D.P., Hinkle, C.R., Drake, B.G. & Hungate, B.A. (2003): Direct and indirect effects of elevated CO₂ on transpiration from *Quercus myrtifolia* in a scrub-oak ecosystem. Glob. Change Biol. **9**, 96-105.
- Li, P.-H., Wang, Z.-L., Zhang, H. & Wang, B.S. (2004): Cloning and expression analysis of the B subunit of V-H⁺-ATPase in leaves of the halophyte *Suaeda salsa* under salt stress. Acta Bot. Sin. **46**, 93-99.
- Libbert, E. (1993): Lehrbuch der Pflanzenphysiologie. Gustav Fischer Verlag, Jena, Stuttgart, 5. Aufl.
- Liber Herbarium II (2005). Der unvollständige Referenz-Guide für Heilkräuter. Erhältlich online unter <http://www.liberherbarum.com/Pn0839.HTM>.
- Lichtenthaler, H.K. (1987): Chlorophylls and carotenoids - pigments of photosynthetic membranes. Methods Enzymol. **148**, 350-382.
- Lichtenthaler, H.K. & Wellburn, A.R. (1983): Determination of the total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. Biochem. Soc. Transaction **603**, 591-592.
- LI-COR (1990): LI-6200 technical reference. LI-COR Inc., Lincoln, NE, USA.

- Lieth, H. (1999): Development of crops and other useful plants from halophytes. In: Lieth, H., Moschenko, M., Lohmann, M., Koyro, H.-W. & Hamdy, A. (Hrsg.): Halophyte uses in different climates I. Ecological and ecophysiological studies. Progress in Biometeorology 13. Backhuys Publishers, Leiden. S. 1-18.
- Lieth, H. & Moschenko, M. (1998): Sustainable use of halophytes. EU concerted action IC 18 CT 96-0055. Eigendruck, Osnabrück, 2. Aufl.
- Lieth, H., Moschenko, M., Lohmann, M., Koyro, H.-W. & Hamdy, A. (Hrsg.) (1999): Halophyte uses in different climates I. Ecological and ecophysiological studies. Progress in Biometeorology 13. Backhuys Publishers, Leiden.
- Lieth, H. & Mochtchenko, M. (Hrsg.) (2002): Halophyte uses in different climates IV. Cashcrop halophytes for future halophyte growers. Progress in Biometeorology 18. Backhuys Publishers, Leiden.
- Lin, C.C., Hsu, Y.T. & Kao, C.H. (2002): The effect of NaCl on proline accumulation in rice leaves. Plant Growth Regul. **36**, 275-285.
- Liska, A.J., Shevchenko, A., Pick, U. & Katz, A. (2004): Enhanced photosynthesis and redox energy production contribute to salinity tolerance in *Dunaliella* as revealed by homology-based proteomics. Plant Physiol. **136**, 2806-2817.
- Liu, X., Duan, D., Li, W., Tadano, T. & Khan, A. (2006): A comparative study on responses of growth and solute composition in halophytes *Suaeda salsa* and *Limonium bicolor* to salinity. In: Khan, M.A. & Weber, D.J. (Hrsg.): Ecophysiology of high salinity tolerant plants. Tasks for vegetation science 40. Springer Verlag, Dordrecht. S. 135-143.
- Loch, D.S., Barrett-Lennard, E. & Truong, P. (2003): Role of salt tolerant plants for production, prevention of salinity and amenity values. Proc 9th National Conf. on Productive Use of Saline Lands. Erhältlich im Internet unter http://www.lwrrdc.gov.au/ndsp/downloads/pdfs/Pursl2003_4_op_Loch_BarrettLennard_Truong.pdf.
- Long, S.P., Ainsworth, E.A., Rogers, A. & Ort, D.R. (2004): Rising atmospheric carbon dioxide: plants FACE the future. Annu. Rev. Plant Biol. **55**, 591-628.
- Lorenzen, B., Skovhus, K. & Jensen, A. (1990): Spectral properties and net photosynthesis of *Aster tripolium* L. and *Halimione portulacoides* (L.) Aellen leaves under saline and hypoxic conditions. New Phytol. **116**, 255-262.
- Lovelock, C.E. & Ball, M.C. (2002): Influence of salinity on photosynthesis of halophytes. In: Läuchli, A. & Lüttge, U. (Hrsg.): Salinity: environment – plants – molecules. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. S. 315-339.
- Lu, C., Jiang, G., Wang, B. & Kuang, T. (2003): Photosystem II photochemistry and photosynthetic pigment composition in salt-adapted halophyte *Artemisia anethifolia* grown under outdoor conditions. J. Plant Physiol. **160**, 403-408.
- Ma, T., Liu, Q., Li, Z. & Zhang, X. (2002): Tonoplast H⁺-ATPase in response to salt stress in *Populus euphratica* cell suspensions. Plant Sci. **163**, 499-505.
- Maggio, A., Miyazaki, S., Veronese, P., Fujita, T., Ibeas, J.I., Damsz, B., Narasimhan, M.L., Hasegawa, P.M., Joly, R.J. & Bressan, R.A. (2002): Does proline accumulation play an active role in stress-induced growth reduction? Plant J. **31**, 699-712.
- Mäkelä, P., Kärkkäinen, J. & Somersalo, S. (2000): Effect of glycinebetaine on chloroplast ultrastructure, chlorophyll and protein content, and RuBPCO activities in tomato grown under drought or salinity. Biol. Plant. **43**, 471-475.
- Mansour, M.M.F., Salama, K.H.A. & Al-Mutawa, M.M. (2003): Transport proteins and salt tolerance in plants. Plant Sci. **164**, 891-900.
- Marabottini, R., Schraml, C., Paolacci, A.R., Sorgona, A., Raschi, A., Rennenberg, H. & Badiani, M. (2001): Foliar antioxidant status of adult Mediterranean oak species (*Quercus ilex* L. and *Q. pubescens* Willd.) exposed to permanent CO₂-enrichment and to seasonal water stress. Environ. Pollut. **113**, 413-423.
- Marchi, S., Tognetti, R., Vaccari, F.P., Lanini, M., Kaligarić, M., Miglietta, F. & Raschi, A. (2004): Physiological and morphological responses of grassland species to elevated atmospheric CO₂ concentrations in FACE-systems and natural CO₂ springs. Funct. Plant Biol. **31**, 181-194.

- Marcum, K.B. (2006): Saline tolerance physiology in grasses. In: Khan, M.A. & Weber, D.J. (Hrsg.): Ecophysiology of high salinity tolerant plants. Tasks for vegetation science 40. Springer Verlag, Dordrecht. S. 157-172.
- Marschner, H. (1995): Mineral nutrition of higher plants. Academic Press, London, 2. Aufl.
- Matsumura, T., Kanechi, M., Inagaki, N. & Maekawa, S. (1998a): The effects of salt stress on ion uptake, accumulation of compatible solutes and leaf osmotic potential in Safflower, *Chrysanthemum paludosum* and Sea Aster. J. Jap. Soc. Hort. Sci. **67**, 426-431.
- Matsumura, T., Kanechi, M., Inagaki, N. & Maekawa, S. (1998b): The effects of NaCl stress on germination and early vegetative growth in floricultural *Asteraceae* plants. J. Jap. Soc. Hort. Sci. **67**, 626-631.
- Mavrogianopoulos, G.N., Spanakis, J. & Tsikalas, P. (1999): Effect of carbon dioxide enrichment and salinity on photosynthesis and yield in melon. Sci. Hortic. **79**, 51-63.
- Max-Planck-Institut für Meteorologie (2005): Ergebnisse des Workshops „Climate Scenarios for the Future and their Use for Impact Studies”. Erhältlich online unter <http://www.mpimet.mpg.de>.
- McKersie, B.D. (1996): Oxidative stress. Online erhältlich unter <http://www.plantstress.com/Articles/Oxidative%Stress.htm>.
- Misra, N. & Gupta, A.K. (2005): Effect of salt stress on proline metabolism in two high yielding genotypes of green gram. Plant Sci. **169**, 331-339.
- Mitsuya, S., Takeoka, Y. & Miyake, H. (2000): Effects of sodium chloride on foliar ultrastructure of sweet potato (*Ipomoea batatas* Lam.) plantlets grown under light and dark conditions *in vitro*. J. Plant Physiol. **157**, 661-667.
- Mitsuya, S., Yano, K., Kawasaki, M., Taniguchi, M. & Miyake, H. (2002): Relationship between the distribution of Na and the damages caused by salinity in the leaves of rice seedlings grown under a saline condition. Plant Prod. Sci. **5**, 269-274.
- Mitsuya, S., Kawasaki, M., Taniguchi, M. & Miyake, H. (2003a): Relationship between salinity-induced damages and aging in rice leaf tissues. Plant Prod. Sci. **6**, 213-218.
- Mitsuya, S., Kawasaki, M., Taniguchi, M. & Miyake, H. (2003b): Light dependency of salinity-induced chloroplast degradation. Plant Prod. Sci. **6**, 219-223.
- Mittova, V., Guy, M., Tal, M. & Volokita, M. (2002): Response of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii* to salt-dependent oxidative stress: increased activities of antioxidant enzymes in root plastids. Free Radic. Res. **36**, 195-202.
- Mittova, V., Guy, M., Tal, M. & Volokita, M. (2004): Salinity up-regulates the antioxidative system in root mitochondria and peroxisomes of the wild salt-tolerant tomato species *Lycopersicon pennellii*. J. Exp. Bot. **55**, 1105-1113.
- Morales, M.A., Sánchez-Blanco, M.J., Olmos, E., Torrecillas, A. & Alarcón, J.J. (1998): Changes in the growth, leaf water relations and cell ultrastructure in *Argyranthemum coronopifolium* plants under saline conditions. J. Plant Physiol. **153**, 174-180.
- Morgan, J.A., Lecain, D.R., Mosier, A.R. & Milchunas, D.G. (2001): Elevated CO₂ enhances water relations and productivity and affects gas exchange in C₃ and C₄ grasses of the Colorado shortgrass steppe. Glob. Change Biol. **7**, 451-466.
- Morsomme, P. & Boutry, M. (2000): The plant plasma membrane H⁺-ATPase: structure, function and regulation. Biochim. Biophys. Acta **1465**, 1-16.
- Munns, R. (1993): Physiological processes limiting plant growth in saline soils: some dogmas and hypotheses. Plant Cell Environ. **16**, 15-24.
- Munns, R. (2002a): Comparative physiology of salt and water stress. Plant Cell Environ. **25**, 239-250.
- Munns, R. (2002b): Salinity, growth and phytohormones. In: Läuchli, A. & Lüttge, U. (Hrsg.): Salinity: environment – plants – molecules. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. S. 271-290.
- Munns, R. (2005): Genes and salt tolerance: bringing them together. New Phytol. **167**, 645-663.
- Nakano, Y. & Asada, K. (1981): Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidases in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiol. **22**, 867-880.
- Ndimba, B.K., Chivasa, S., Simon, W.J. & Slabas, A.R. (2005): Identification of *Arabidopsis* salt and osmotic stress responsive proteins using two-dimensional difference gel electrophoresis and mass spectrometry. Proteomics **5**, 4185-4196.
- Netondo, G.W., Onyango, J.C. & Beck, E. (2004a): Sorghum and Salinity: I. Response of growth, water relations, and ion accumulation to NaCl salinity. Crop Sci. **44**, 797-805.

- Netondo, G.W., Onyango, J.C. & Beck, E. (2004b): Sorghum and Salinity: II. Gas exchange and chlorophyll fluorescence of sorghum under salt stress. *Crop Sci.* **44**, 806-811.
- Neuhoff, V., Stamm, R. & Eibl, H. (1985): Clear background and highly sensitive protein staining with Coomassie Blue dyes in polyacrylamide gels: A systematic analysis. *Electrophoresis* **6**, 427-448.
- Oba, G., Post, E. & Stenseth, N.C. (2001): Sub-saharan desertification and productivity are linked to hemispheric climate variability. *Glob. Change Biol.* **7**, 241-246.
- Oertli, J.J. (1968): Extracellular salt accumulation, a possible mechanism of salt injury in plants. *Agrochimica* **12**, 461-469.
- Offler, C.E., McCurdy, D.W., Patrick, J.W. & Talbot, M.J. (2003): Transfer cells: Cells specialized for a special purpose. *Annu. Rev. Plant Biol.* **54**, 431-454.
- Oki, T. & Kanae, S. (2006): Global hydrological cycles and world water resources. *Science* **313**, 1068-1072.
- Oksanen, E., Sober, S. & Karnosky, D.F. (2001): Impacts of elevated CO₂ and / or O₃ on leaf ultrastructure of aspen (*Populus tremuloides*) and birch (*Betula papyrifera*) in the Aspen FACE experiment. *Environ. Pollut.* **115**, 437-446.
- Oksanen, E., Riikonen, J., Kaakinen, S., Holopainen, T. & Vapaavuori, E. (2005): Structural characteristics and chemical composition of birch (*Betula pendula*) leaves are modified by increasing CO₂ and ozone. *Glob. Change Biol.* **11**, 732-748.
- Pahlich, E., Jäger, H.-J. & Kaschel, E. (1981): Thermodynamische Betrachtungen über die reversible Reaktionssequenz Glutaminsäure ↔ Prolin. *Z. Pflanzenphysiol.* **101**, 137-144.
- Pal, M., Rao, L.S., Srivastava, A.C., Jain, V. & Sengupta, U.K. (2003): Impact of CO₂ enrichment and variable nitrogen supplies on composition and partitioning of essential nutrients of wheat. *Biol. Plant.* **47**, 227-231.
- Paramonova, N.V., Shevyakova, N.I. & Kuznetsov, V.I. (2004): Ultrastructure of chloroplasts and their storage inclusions in the primary leaves of *Mesembryanthemum crystallinum* affected by putrescine and NaCl. *Russ. J. Plant Physiol.* **51**, 86-96.
- Parida, A.K., Das, A.B., Sanada, Y. & Mohanty, P. (2004): Effects of salinity on biochemical components of the mangrove, *Aegiceras corniculatum*. *Aquat. Bot.* **80**, 77-87.
- Pasternak, D. (1990): Fodder production with saline water. Projektbericht BGUN-ARI-35-90. The Institute for Applied Research, Ben Gurion University of the Negev, Beer-Sheva, Israel.
- Perera, L.K.R.R., Mansfield, T.A. & Malloch, A.J.C. (1994): Stomatal responses to sodium ions in *Aster tripolium*: a new hypothesis to explain salinity regulation in above-ground tissues. *Plant Cell Environ.* **7**, 335-340.
- Perera, L.K.R.R., Robinson, M.F. & Mansfield, T.A. (1995): Responses of the stomata of *Aster tripolium* to calcium and sodium ions in relation to salinity tolerance. *J. Exp. Bot.* **46**, 623-629.
- Perera, L.K.R.R., De Silva, D.L.R. & Mansfield, T.A. (1997): Avoidance of sodium accumulation by the stomatal guard cells of the halophyte *Aster tripolium*. *J. Exp. Bot.* **48**, 707-711.
- Pessarakli, M., Marcum, K.B. & Kopec, D.M. (2005a): Growth responses and nitrogen-15 absorption of desert saltgrass under salt stress. *J. Plant Nutr.* **28**, 1441-1452.
- Pessarakli, M.M., Morgan, P.V. & Gilbert, J.J. (2005b): Dry matter yield, protein synthesis, starch, and fiber content of barley and wheat plants under two irrigation regimes. *J. Plant Nutr.* **28**, 1227-1241.
- Pitman, M.G. (1965): Transpiration and the selective uptake of potassium by barley seedlings (*Hordeum vulgare* cv. Bolivia). *Aust. J. Biol. Sci.* **18**, 987-999.
- Pitman, M.G. & Läuchli, A. (2002): Global impact of salinity and agricultural ecosystems. In: Läuchli, A. & Lüttge, U. (Hrsg.): *Salinity: environment – plants – molecules*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. S. 3-20.
- Plattner, H. & Zingsheim, H.P. (1987): *Elektronenmikroskopische Methodik in der Zell- und Molekularbiologie*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
- Poorter, H., Roumet, C. & Campbell, B.D. (1996): Interspecific variation in the growth response of plants to elevated CO₂: A search for functional types. In: Körner, C. & Bazzaz, F.A. (Hrsg.): *Carbon dioxide, populations, and communities*. Academic Press, San Diego. S. 375-412.
- Poorter, H. & Pérez-Soba, M. (2001): The growth response of plants to elevated CO₂ under non-optimal environmental conditions. *Oecologia* **129**, 1-20.

- Poorter, H. & Navas, M.-L. (2003): Plant growth and competition at elevated CO₂: winners, losers and functional groups. *New Phytol.* **157**, 175-198.
- Prasad, P.V.V., Boote, K.J., Vu, J.C.V. & Allen Jr., L.H. (2004): The carbohydrate metabolism enzymes sucrose-P synthase and ADG-pyrophosphorylase in *Phaseolus* bean leaves are up-regulated at elevated growth carbon dioxide and temperature. *Plant Sci.* **166**, 1565-1573.
- Rahman, M.S., Miyake, H. & Takeoka, Y. (2002): Effects of exogenous glycinebetaine on growth and ultrastructure of salt-stressed rice seedlings (*Oryza sativa* L.). *Plant Prod. Sci.* **5**, 33-44.
- Ramani, B. (2004): Untersuchung zur Salztoleranz der Halophyten *Aster tripolium* L. und *Sesuvium portulacastrum* L. mit Hilfe von physiologischen, biochemischen und molekularbiologischen Methoden. Dissertation, Universität Hannover.
- Ramani, B., Zorn, H. & Papenbrock, J. (2004): Quantification of fatty acid profiles of sulfolipids in two halophytes and a glycophyte grown under different salt concentrations. *Z. Naturforsch.* **59c**, 835-842.
- Ramoliya, P.J., Patel, H.M. & Pandey, A.N. (2004): Effect of salinisation of soil on growth and macro- and micro-nutrient accumulation in seedlings of *Acacia catechu* (Mimosaceae). *Ann. Appl. Biol.* **144**, 321-332.
- Rao, M.V., Hale, B.A. & Ormrod, D.P. (1995): Amelioration of ozone-induced oxidative damage in wheat plants grown under high carbon dioxide. *Plant Physiol.* **109**, 421-432.
- Reade, J.P.H. & Cobb, A.H. (1999): Purification, characterization and comparison of glutathione S-transferases from black-grass (*Alopecurus myosuroides* Huds) biotypes. *Pestic. Sci.* **55**, 993-999.
- Rechenburg, G. (2005): Schutzschild aus Mangroven. Erhältlich online unter http://www.welthungerhilfe.de/mangroven_schutz.html.
- Reddy, A.R., Chaitanya, K.V. & Vivekanandan, M. (2004): Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *J. Plant Physiol.* **161**, 1189-1202.
- Renaut, J., Lutts, S., Hoffmann, L. & Hausman, J.-F. (2004): Responses of poplar to chilling temperatures: proteomic and physiological aspects. *Plant Biol.* **6**, 81-90.
- Reynolds, E.S. (1963): The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.* **17**, 208.
- Rhodes, D., Nadolska-Orczyk, A. & Rich, P.J. (2002): Salinity, osmolytes and compatible solutes. In: Läuchli, A. & Lüttge, U. (Hrsg.): *Salinity: environment – plants – molecules*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. S. 181-204.
- Rios-Gonzalez, K., Erdei, L. & Lips, H. (2002): The activity of antioxidant enzymes in maize and sunflower seedlings as affected by salinity and different nitrogen sources. *Plant Sci.* **162**, 923-930.
- Robinson, M.F., Véry, A.-A., Sanders, D. & Mansfield, T.A. (1997): How can stomata contribute to salt tolerance? *Ann Bot.* **80**, 387-393.
- Rodríguez, P., Torrecillas, A., Morales, M.A., Ortuno, M.F. & Sánchez-Blanco, M.J. (2005): Effects of NaCl salinity and water stress on growth and leaf water relations of *Asteriscus maritimus* plants. *Environ. Exp. Bot.* **53**, 113-123.
- Rogers, H.H. & Dahlman, R.C. (1993): Crop responses to CO₂ enrichment. *Vegetatio* **104/105**, 117-131.
- Rogers, A., Allen, D.J., Davey, P.A., Morgan, P.B., Ainsworth, E.A., Bernacchi, C.J., Cornic, G., Dermody, O., Dohleman, F.G., Heaton, E.A., Mahoney, J., Zhu, X.-G., Delucia, E.H., Ort, D.R. & Long, S.P. (2004): Leaf photosynthesis and carbohydrate dynamics of soybeans grown throughout their life-cycle under Free-Air Carbon Dioxide Enrichment. *Plant Cell Environ.* **27**, 449-458.
- Roxas, V.P., Lodhi, S.A., Garrett, D.K., Mahan, J.R. & Allen, R.D. (2000): Stress tolerance in transgenic tobacco seedlings that overexpress glutathione S-transferase/glutathione peroxidase. *Plant Cell Physiol.* **41**, 1229-1234.
- Rozema, J. (1993): Plant responses to atmospheric carbon dioxide enrichment: Interactions with some soil and atmospheric conditions. *Vegetatio* **104/105**, 173-190.
- Rozema, J., Lenssen, G.M., Broekman, R.A. & Arp, W.P. (1990): Effects of atmospheric carbon dioxide enrichment on salt-marsh plants. In: Beukema, J.J., Wolff, W.J. & Brouns, J.J.W.M. (Hrsg.): *Expected effects of climatic change on marine coastal ecosystems*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. S. 49-54.
- Rozema, J., Dorel, F., Janissen, R., Lenssen, G., Broekman, R., Arp, W. & Drake, B.G. (1991): Effect of elevated atmospheric CO₂ on growth, photosynthesis and water relations of salt marsh grass species. *Aquat. Bot.* **39**, 45-55.

- Rus, A., Yokoi, S., Sharkhuu, A., Reddy, M., Lee, B.H., Matsumoto, T.K., Koiwa, H., Zhu, J.K., Bressan, R.A. & Hasegawa, P.M. (2001): AtHKT1 is a salt tolerance determinant that controls Na⁺ entry into plant roots. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **98**, 14150-14155.
- Rus, A., Lee, B., Munoz-Mayor, A., Sharkhuu, A., Miura, K., Zhu, J.-K., Bressan, R.A. & Hasegawa, P.M. (2004): AtHKT1 facilitates Na⁺ homeostasis and K⁺ nutrition in planta. *Plant Physiol.* **136**, 2500-2511.
- Rus, A.M., Bressan, R.A. & Hasegawa, P.M. (2005): Unraveling salt tolerance in crops. *Nat. Genet.* **37**, 1029-1030.
- Ruzin, S.E. (1999): *Plant microtechnique and microscopy*. Oxford University Press, New York, Oxford.
- Sairam, R.K. & Tyagi, A. (2004): Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Current Sci.* **86**, 407-421.
- Salekdeh, G.H., Siopongco, J., Wade, L.J., Ghareyazie, B. & Bennet, J. (2002a): Proteomics analysis of rice leaves during drought stress and recovery. *Proteomics* **2**, 1131-1145.
- Salekdeh, G.H., Siopongco, J., Wade, L.J., Ghareyazie, B. & Bennet, J. (2002b): A proteomic approach to analyzing drought- and salt-responsiveness in rice. *Field Crops Res.* **76**, 199-219.
- Schimper, A.F.W. (1891): *Pflanzengeographie auf physiologischer Grundlage*. Fischer Publikation, Jena.
- Schmitt, V., Kußmaul, A. & Wild, A. (1999): Interaction of elevated CO₂ and ozone concentrations and irrigation regimes on leaf anatomy and carbohydrate status of young oak (*Quercus petraea*) trees. *Z. Naturforsch.* **54c**, 812-823.
- Schrattenholz, A. (Hrsg.) (2001): *Methoden der Proteomforschung. Molekulare Analyse der Proteinexpression*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin.
- Schulte, M., Offer, C. & Hansen, U. (2003): Induction of CO₂-gas exchange and electron transport: comparison of dynamic and steady-state responses in *Fagus sylvatica* leaves. *Trees* **17**, 153-163.
- Schulze, E.-D., Beck, E. & Müller-Hohenstein, K. (2002): *Pflanzenökologie*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin.
- Schwanz, P. & Polle, A. (2001): Differential stress responses of antioxidative systems to drought in pendunculate oak (*Quercus robur*) and maritime pine (*Pinus pinaster*) grown under high CO₂ concentrations. *J. Exp. Bot.* **52**, 133-143.
- Schwarz, M. & Gale, J. (1984): Growth responses to salinity at high levels of carbon dioxide. *J. Exp. Bot.* **35**, 193-196.
- Shalata, A., Mittova, V., Volokita, M., Guy, M. & Tal, M. (2001): Response of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii* to salt-dependent oxidative stress: the root antioxidative system. *Physiol. Plant.* **112**, 487-494.
- Shankhdhar, D., Shankhdhar, S.C., Mani, S.C. & Pant, R.C. (2000): In vitro selection for salt tolerance in rice. *Biol. Plant.* **43**, 477-480.
- Shennan, C. (1987): Salt tolerance in *Aster tripolium* L. III. Na and K fluxes in intact seedlings. *Plant Cell Environ.* **10**, 75-81.
- Shennan, C., Hunt, R. & MacRobbie, E.A.C. (1987a): Salt tolerance in *Aster tripolium* L. I. The effect of salinity on growth. *Plant Cell Environ.* **10**, 59-65.
- Shennan, C., Hunt, R. & MacRobbie, E.A.C. (1987b): Salt tolerance in *Aster tripolium* L. II. Ionic regulation. *Plant Cell Environ.* **10**, 67-74.
- Shevchenko, A., Wilm, M., Vorm, O. & Mann, M. (1996): Mass spectrometric sequencing of proteins from silver-stained polyacrylamide gels. *Anal. Chem.* **68**, 850-858.
- Shi, H., Quintero, F.J., Pardo, J.M. & Zhu, J.-K. (2002): The putative plasma membrane Na⁺/H⁺ antiporter SOS1 controls long-distance Na⁺ transport in plants. *Plant Cell* **14**, 465-477.
- Sibole, J.V., Cabot, C., Michalke, W., Poschenrieder, C. & Barceló, J. (2005): Relationship between expression of the PM H⁺-ATPase, growth and ion partitioning in the leaves of salt-treated *Medicago species*. *Planta* **221**, 557-566.
- Sitte, P. (1962): Einfaches Verfahren zur stufenlosen Gewebeentwässerung für die elektronenmikroskopische Präparation. *Naturwissenschaften* **49**, 402-403.
- Sivakumar, P., Sharmila, P. & Pardha Saradhi, P. (2000): Proline alleviates salt-stress-induced enhancement in ribulose-1,5-bisphosphate oxygenase activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **279**, 512-515.

- Snedaker, S.C. & Araújo, R.J. (1998): Stomatal conductance and gas exchange in four species of Caribbean mangroves exposed to ambient and increased CO₂. *Mar. Freshw. Res.* **49**, 325-327.
- Sobrado, M.A. (2005): Leaf characteristics and gas exchange of the mangrove *Laguncularia racemosa* as affected by salinity. *Photosynthetica* **43**, 217-221.
- Spurr, A.R. (1969): A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *J. Ultrastruct. Res.* **26**, 31-43.
- Stepien, P. & Klobus, G. (2005): Antioxidant defense in the leaves of C₃ and C₄ plants under salinity stress. *Physiol. Plant.* **125**, 31-40.
- Steubing, L. & Fangmeier, A. (1992): *Pflanzenökologisches Praktikum*. Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart.
- Stienstra, A.W. (1986): Nitrate accumulation and growth of *Aster tripolium* L. with a continuous and intermittent nitrogen supply. *Plant Cell Environ.* **9**, 307-313.
- Sudhir, P. & Murthy, S.D.S. (2004): Effects of salt stress on basic processes of photosynthesis. *Photosynthetica* **42**, 481-486.
- Sugino, M., Hibino, T., Tanaka, Y., Nii, N. & Takabe, T. (1999): Overexpression of DnaK from a halotolerant cyanobacterium *Aphanothece halophytica* acquires resistance to salt stress in transgenic tobacco plants. *Plant Sci.* **137**, 81-88.
- Szabolcs, I. (1994): Soils and salinization. In: Pessarakli, M. (Hrsg.): *Handbook of plant and crop stress*. Marcel Dekker Inc., New York. S. 3-11.
- Tanji, K.K. (2002): Salinity in the soil environment. In: Läuchli, A. & Lüttge, U. (Hrsg.): *Salinity: environment – plants – molecules*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. S. 21-51.
- Taub, D.R., Seemann, J.R. & Coleman, J.S. (2000): Growth in elevated CO₂ protects photosynthesis against high-temperature damage. *Plant Cell Environ.* **23**, 649-656.
- Tester, M. & Davenport, R. (2003): Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. *Ann. Bot.* **91**, 503-527.
- Thomas, S.C. (2005): Increased leaf reflectance in tropical trees under elevated CO₂. *Glob. Change Biol.* **11**, 197-202.
- Tingey, D.T., McKane, R.B., Olszyk, D.M., Johnson, M.G., Rygiewicz, P.T. & Lee, H. (2003): Elevated CO₂ and temperature alter nitrogen allocation in Douglas-fir. *Glob. Change Biol.* **9**, 1038-1050.
- Tipping, C. & Murray, D.R. (1999): Effects of elevated atmospheric CO₂ concentration on leaf anatomy and morphology in *Panicum* species representing different photosynthetic modes. *Int. J. Plant Sci.* **160**, 1063-1073.
- Turan, M. & Aydin, A. (2005): Effects of different salt sources on growth, inorganic ions and proline accumulation in corn (*Zea mays* L.). *Eur. J. Hort. Sci.* **70**, 149-155.
- Tyree, M.T. & Alexander, J.D. (1993): Plant water relations and the effects of elevated CO₂: a review and suggestions for future research. *Vegetatio* **104/105**, 47-62.
- Ueda, A., Kanechi, M., Uno, Y. & Inagaki, N. (2003): Photosynthetic limitations of a halophyte sea aster (*Aster tripolium* L.) under water stress and NaCl stress. *J. Plant Res.* **116**, 65-70.
- Ullrich, W.R. (2002): Salinity and nitrogen nutrition. In: Läuchli, A. & Lüttge, U. (Hrsg.): *Salinity: environment – plants – molecules*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. S. 229-248.
- UNEP (1993): *Halophytes for livestock, rehabilitation of degraded land and sequestering atmospheric carbon*. United Nations Environment Programme (UNEP).
- Uno, Y., Kanechi, M., Inagaki, N., Taaki, N. & Maekawa, S. (1996): Growth and protein profile responses in the halophyte Sea Aster (*Aster tripolium* L.) suspension-cultured cells to salinity. *J. Plant Res.* **109**, 409-414.
- Urban, O. (2003): Physiological impacts of elevated CO₂ concentration ranging from molecular to whole plant responses. *Photosynthetica* **41**, 9-20.
- van Ittersum, M.K., Howden, S.M. & Asseng, S. (2003): Sensitivity of productivity and deep drainage of wheat cropping systems in a Mediterranean environment to changes in CO₂, temperature and precipitation. *Agricult. Ecosys. Environ.* **97**, 255-273.
- Vasekina, A.V., Yershov, P.V., Reshetova, O.S., Tikhonova, T.V., Lunin, V.G., Trofimova, M.S. & Babakov, A.V. (2005): Vacuolar Na⁺/H⁺ antiporter from barley: Identification and response to salt stress. *Biochemistry (Moscow)* **70**, 100-107.

- Venema, K., Belver, A., Marín-Manzano, M.C., Rodríguez-Rosales, M.P. & Donaire, J.P. (2003): A novel intracellular K^+/H^+ antiporter related to Na^+/H^+ antiporters is important for K^+ ion homeostasis in plants. *J. Biol. Chem.* **278**, 22453-22459.
- Vereinte Nationen (2005): World population prospects: the 2004 revision. Erhältlich online unter http://www.un.org/esa/population/publications/WPP2004/2004Highlights_finalrevised.pdf.
- Véry, A.-A., Robinson, M.F., Mansfield, T.A. & Sanders, D. (1998): Guard cell cation channels are involved in Na^+ -induced stomatal closure in a halophyte. *Plant J.* **14**, 509-521.
- von Willert, D.J., Matyssek, R. & Herppich, W. (1995): Experimentelle Pflanzenökologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- Wagener, W., Keller, F. & Wiemken, A. (1983): Fructan metabolism in cereals: Induction in leaves and compartmentation in protoplast and vacuoles. *Z. Pflanzenphys.* **112**, 359-372.
- Walter, A., Christ, M.M., Barron-Gafford, G.A., Grieve, K.A., Murthy, R. & Rascher, U. (2005): The effect of elevated CO_2 on diel leaf growth cycle, leaf carbohydrate content and canopy growth performance of *Populus deltoides*. *Glob. Change Biol.* **11**, 1207-1219.
- Wang, W.-X., Pelah, D., Alergand, T., Shoseyov, O. & Altman, A. (2002): Characterization of SP1, a stress-responsive, boiling-soluble, homo-oligomeric protein from aspen. *Plant Physiol.* **130**, 865-875.
- Wang, W., Vinocur, B. & Altman, A. (2003a): Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta* **218**, 1-14.
- Wang, K.-Y., Kellomäki, S. & Zha, T. (2003b): Modifications in photosynthetic pigments and chlorophyll fluorescence in 20-year-old pine trees after a four-year exposure to carbon dioxide and temperature elevation. *Photosynthetica* **41**, 167-175.
- Wegmann, L. (1998): Einfluß von Salzbelastung auf Morphologie, Physiologie und wirtschaftliche Nutzbarkeit der weißen Mangrove *Laguncularia racemosa* (L.) GAERTN. f. Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover.
- West, N.E., Stark, J.M., Johnson, D.W., Abrams, M.M., Wight, J.R., Heggem, D. & Peck, S. (1994): Effects of climatic change on the edaphic features of arid and semiarid lands of western North America. *Arid Soil Res. Rehab.* **8**, 307-351.
- Wilm, M., Shevchenko, A., Houthaeve, T., Fotsis, T., Breit, S., Schweigerer, L. & Mann, M. (1996): Femtomole sequencing of proteins from polyacrylamide gels by nano electrospray mass spectrometry. *Nature* **379**, 466-469.
- Wingler, A., Lea, P.J., Quick, W.P. & Leegood, R.C. (2000): Photorespiration: metabolic pathways and their role in stress protection. *Philos. Trans. Roy. Soc. London B* **1402**, 1517-1529.
- Wong, C. H. & Jäger, H.-J. (1978): Salt-induced vesiculation in mesophyll cells of *Atriplex* species. *Plant Sci. Lett.* **12**, 63-68.
- Wullschleger, S.D., Tschaplinski, T.J. & Norby, R.J. (2002): Plant water relations at elevated CO_2 – implications for water-limited environments. *Plant Cell Environ.* **25**, 319-331.
- Wyn Jones, R.G., Storey, R., Leigh, R.A., Ahmad, N. & Pollard, A. (1977): A hypothesis on cytoplasmic osmoregulation. In: Marrè, E. & Ciferri, O. (Hrsg.): Regulation of cell membrane activities in plants. Elsevier, Amsterdam. S. 121-136.
- Wyn Jones, R.G. & Gorham, J. (2002): Intra- und intercellular compartmentation of ions. In: Läuchli, A. & Lüttge, U. (Hrsg.): Salinity: environment – plants – molecules. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. S. 159-180.
- Yamane, K., Mitsuya, S., Kawasaki, M., Taniguchi, M. & Miyake, H. (2004): Salinity-induced chloroplast damages in rice leaves (*Oryza sativa* L.) are reduced by pretreatment with methyl viologen. Erhältlich online unter: [http://www.cropscience.org.au/icsc2004/poster/3/6/2/684](http://www.cropsscience.org.au/icsc2004/poster/3/6/2/684).
- Yan, S.P., Tang, Z.C. & Sun, W. (2005): Proteomic analysis of salt stress-responsive proteins in rice root. *Proteomics* **5**, 235-244.
- Yeo, A. (1999): Predicting the interaction between the effects of salinity and climate change on crop plants. *Sci. Hortic.* **78**, 159-174.
- Zhang, J.-S., Xie, C., Li, Z.-Y. & Chen, S.-Y. (1999): Expression of the plasma membrane H^+ -ATPase gene in response to salt stress in a rice salt-tolerant mutant and its original variety. *Theor. Appl. Genet.* **99**, 1006-1011.
- Zhang, J.Z., Creelman, R.A. & Zhu, J.-K. (2004): From laboratory to field. Using information from *Arabidopsis* to engineer salt, cold, and drought tolerance in crops. *Plant Physiol.* **135**, 615-621.

- Zhao, M. & Zeng, X.M. (2002): A theoretical analysis on the local climate change induced by the change of landuse. *Adv. Atmos. Sci.* **19**, 45-63.
- Zhu, J.-K. (2002): Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* **53**, 247-273.
- Zörb, C., Schmitt, S., Neeb, A., Karl, S., Linder, M. & Schubert, S. (2004): The biochemical reaction of maize (*Zea mays* L.) to salt stress is characterized by a mitigation of symptoms and not by a specific adaptation. *Plant Sci.* **167**, 91-100.
- Zörb, C., Noll, A., Karl, S., Leib, K., Yan, F. & Schubert, S. (2005): Molecular characterization of Na⁺/H⁺ antiporters (*ZmNHX*) of maize (*Zea mays* L.) and their expression under salt stress. *J. Plant Physiol.* **162**, 55-66.

DANKSAGUNG

Die Arbeit am Institut für Pflanzenökologie hat mir viel Freude bereitet, da dort stets eine sehr angenehme Arbeitsatmosphäre herrschte. Daran hatten alle Mitarbeiter des Instituts ihren Anteil.

Mein besonderer Dank gilt

- Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. Hans-Jürgen Jäger für die Überlassung des Themas und für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes, der Arbeitsgeräte und aller Institutseinrichtungen;
- Herrn PD Dr. Hans-Werner Koyro für das ausgesprochen rege Interesse am Thema meiner Arbeit, für die ungewöhnlich engagierte wissenschaftliche Beratung und Betreuung und nicht zuletzt für seine allzeit freundschaftliche, verständnisvolle und einfühlsame Art im menschlichen Miteinander;
- Herrn Prof. Dr. Edwin Pahlich für die Möglichkeit zur Nutzung seiner Laboreinrichtungen, für die stets bereitwillige und freundliche Unterstützung bei der Proteom-Analyse und den Enzymbestimmungen sowie für die Bereitschaft, das Zweitgutachten zu dieser Dissertation anzufertigen;
- Herrn Gerhard Mayer, Frau Angelika Bölke, Frau Gerlinde Lehr, Herrn Jürgen Franz und Herrn Wolfgang Stein für die tatkräftige Hilfe bei der Pflanzenkultivierung, der Pflanzenernte und bei verschiedensten Labormethoden;
- Herrn PD Dr. Christian Zörb und Frau Anneliese Weber (Institut für Pflanzenernährung) für die gute Kooperation bei der Nutzung des IEF-Gerätes und des Delta 2D-Auswerteprogramms;
- Herrn Dr. Martin Hardt, Frau Sabine Agel und Frau Sandra Schneider (Zentrale Biotechnische Betriebseinheit) für die Betreuung der TEM- und REM-Arbeiten bzw. für die Einführung in das Bildbearbeitungsprogramm analySIS;
- Frau Petra Stutz und Herrn Dr. Siegbert Günther (Institut für Botanik) für die Unterstützung bei der Kohlenhydratbestimmung;
- Herrn PD Dr. Bernhard Huchzermeyer und Herrn Dr. Balasubramanian Ramani (Institut für Botanik der Universität Hannover) für die Möglichkeit, in ihrem Institut arbeiten zu können bzw. für die Betreuung bei der ATPase-Bestimmung;
- Herrn Steffen Pahlich (Biochemisches Institut der Universität Zürich) für die kostenlose und zügige MALDI-TOF-MS-Analyse der Proteinspots und für die Hilfestellung bei der Datenauswertung;

- nicht zuletzt meinen Eltern, besonders meiner Mutter, für ihre aufmunternde moralische Unterstützung.

ANHANG 1

Ergänzende Versuchsergebnisse zu den Sommerkulturen

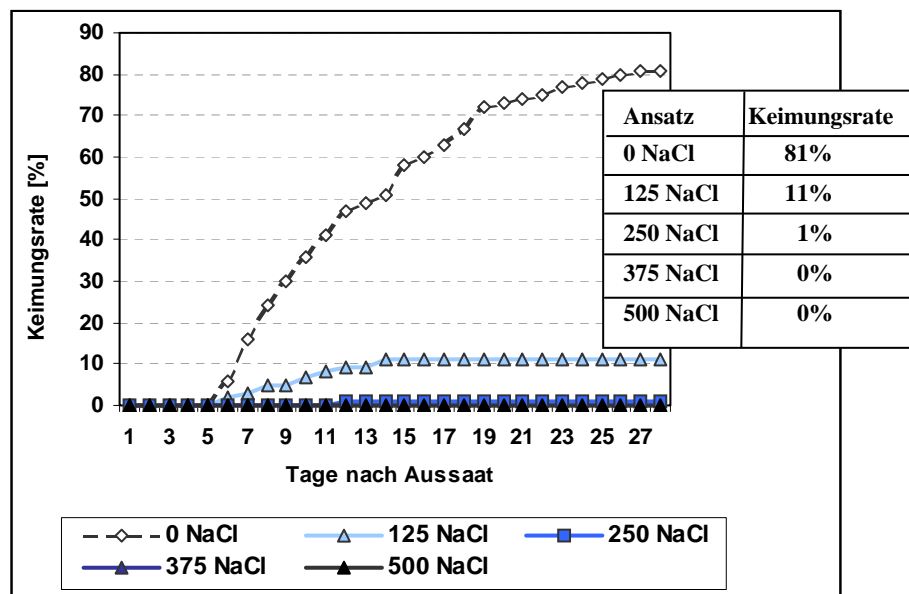


Abb. A1.1. Keimungsrate im zeitlichen Verlauf bei verschiedenen Salinitäten.

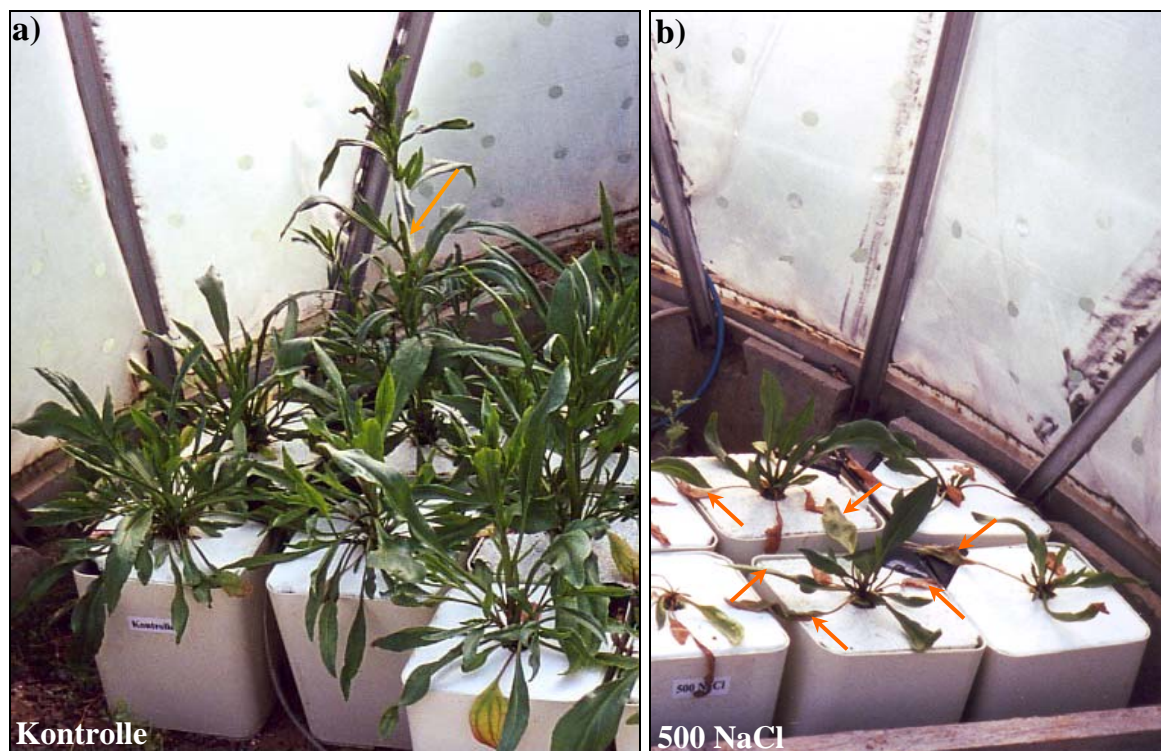


Abb. A1.2. Habitus von *Aster tripolium* in der vegetativen Phase bei verschiedenen Salinitäten unter $[CO_2]_{380}$. a) Kontrollen kurz vor der Ernte; b) 500 NaCl-Varianten kurz vor der Ernte.

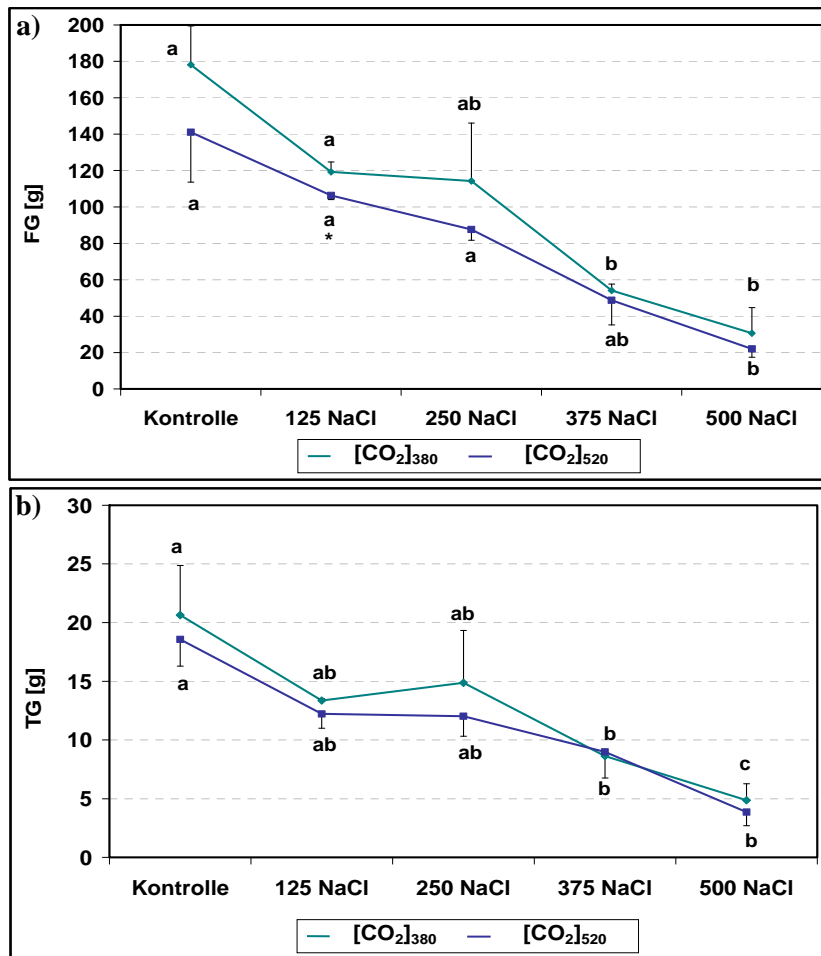


Abb. A1.3. Gesamt-Biomasse pro Pflanze bei verschiedenen Salinitäten unter [CO₂]₃₈₀ und [CO₂]₅₂₀ (Sommerkultur 2001). a) Frischgewicht; b) Trockengewicht. Unterschiedliche Buchstaben bedeuten signifikante Unterschiede zwischen den Salinitäten ($p \leq 0,05$). * bedeutet signifikanter Unterschied ($p \leq 0,05$) zwischen den CO₂-Ansätzen.

Tab. A1.1. Blattanzahl pro Pflanze, Fläche pro Blatt (jeweils Mittelwerte aus den Sommerkulturen 2002 und 2003) und Sproß/Wurzel-Verhältnis (Mittelwerte aus den drei Sommerkulturen) bei verschiedenen Salinitäten unter $[\text{CO}_2]_{380}$ und $[\text{CO}_2]_{520}$. Unterschiedliche Buchstaben bedeuten signifikante Unterschiede zwischen den Salinitäten ($p \leq 0,05$). * bedeutet signifikanter Unterschied ($p \leq 0,05$) zwischen den CO_2 -Ansätzen.

	Blattanzahl	Fläche/Blatt (adult) [cm ²]	Fläche/Blatt (ju- venil) [cm ²]	Sproß/Wurzel- Verhältnis
Kontrolle ₃₈₀	57 ±13 <i>a</i>	88,86 ±18,19 <i>a</i>	27,33 ±7,10 <i>a</i>	1,95 ±0,2 <i>a</i>
125 NaCl ₃₈₀	34 ±4 <i>b</i>	68,39 ±12,91 <i>ab</i>	23,30 ±3,98 <i>a</i>	1,36 ±0,15 <i>b</i>
250 NaCl ₃₈₀	32 ±5 <i>b</i>	55,94 ±7,63 <i>bc</i>	17,75 ±4,17 <i>ab</i>	1,56 ±0,37 <i>ab</i>
375 NaCl ₃₈₀	27 ±5 <i>b</i>	39,64 ±5,91 <i>cd</i>	12,45 ±5,10 <i>bc</i>	1,51 ±0,35 <i>ab</i>
500 NaCl ₃₈₀	17 ±5 <i>c</i>	38,04 ±9,55 <i>d</i>	8,98 ±3,46 <i>c</i>	1,75 ±0,49 <i>ab</i>
Kontrolle ₅₂₀	62 ±16 <i>a</i>	82,2 ±26,2 <i>a</i>	27,50 ±7,16 <i>a</i>	1,88 ±0,37 <i>a</i>
125 NaCl ₅₂₀	40 ±10 <i>a</i>	72,8 ±22,89 <i>a</i>	18,92 ±3,81 <i>ab</i>	1,68 ±0,25 <i>a</i> *
250 NaCl ₅₂₀	32 ±6 <i>b</i>	54,02 ±11,55 <i>a</i>	16,61 ±4,81 <i>b</i>	1,61 ±0,46 <i>a</i>
375 NaCl ₅₂₀	29 ±5 <i>b</i>	47,82 ±9,84 <i>b</i>	9,77 ±2,35 <i>c</i>	1,66 ±0,35 <i>a</i>
500 NaCl ₅₂₀	19 ±3 <i>c</i>	44,19 ±15,69 <i>b</i>	9,49 ±2,91 <i>c</i>	1,99 ±0,36 <i>a</i>

Tab. A1.2. Blattanzahl pro Pflanze und Fläche pro Blatt bei verschiedenen Salinitäten unter $[\text{CO}_2]_{380}$ und $[\text{CO}_2]_{520}$ (Sommerkultur 2001). Unterschiedliche Buchstaben bedeuten signifikante Unterschiede zwischen den Salinitäten ($p \leq 0,05$). * bedeutet signifikanter Unterschied ($p \leq 0,05$) zwischen den CO_2 -Ansätzen.

	Blattanzahl	Fläche/Blatt (adult) [cm ²]	Fläche/Blatt (juvenil) [cm ²]
Kontrolle ₃₈₀	124±26 <i>a</i>	66,55±6,57 <i>ab</i>	31,24±2,15 <i>a</i>
125 NaCl ₃₈₀	62±12 <i>b</i>	72,83±3,83 <i>a</i>	28,01±4,87 <i>a</i>
250 NaCl ₃₈₀	66±7 <i>b</i>	56,24,34±4,65 <i>ab</i>	26,08±4,37 <i>ab</i>
375 NaCl ₃₈₀	40±6 <i>b</i>	58,09±10,88 <i>ab</i>	16,94±1,64 <i>bc</i>
500 NaCl ₃₈₀	37±17 <i>b</i>	46,09±16,75 <i>b</i>	10,05±4,01 <i>c</i>
Kontrolle ₅₂₀	101±13 <i>a</i>	91,00±19,35 <i>a</i>	35,01±8,83 <i>a</i>
125 NaCl ₅₂₀	59±11 <i>ab</i>	87,25±6,81 <i>a</i>	22,13±4,05 <i>abc</i>
250 NaCl ₅₂₀	60±13 <i>ab</i>	58,01±5,66 <i>ab</i>	20,06±2,01 <i>abc</i>
375 NaCl ₅₂₀	44±20 <i>bc</i>	57,16±5,66 <i>ab</i>	12,96±5,41 <i>bc</i>
500 NaCl ₅₂₀	19±1 <i>c</i>	42,03±15,75 <i>b</i>	13,4±3,99 <i>c</i>

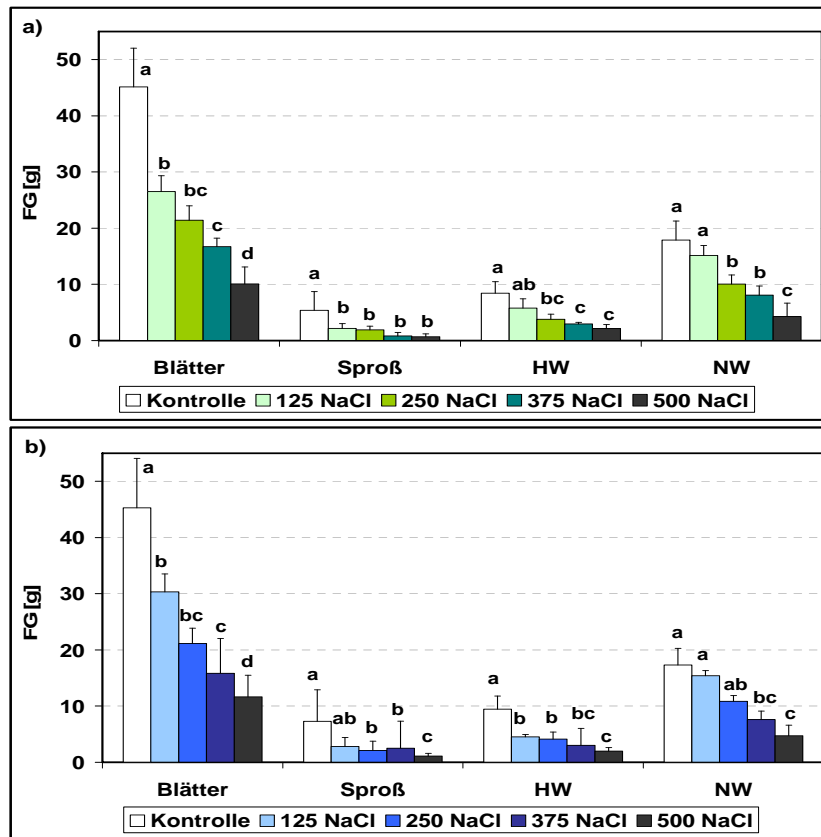


Abb. A1.4. Frischgewichte der Pflanzenorgane bei verschiedenen Salinitäten (Mittelwerte aus den Sommerkulturen 2002 und 2003). a) [CO₂]₃₈₀; b) [CO₂]₅₂₀. HW = Hauptwurzel; NW = Nebenwurzel.

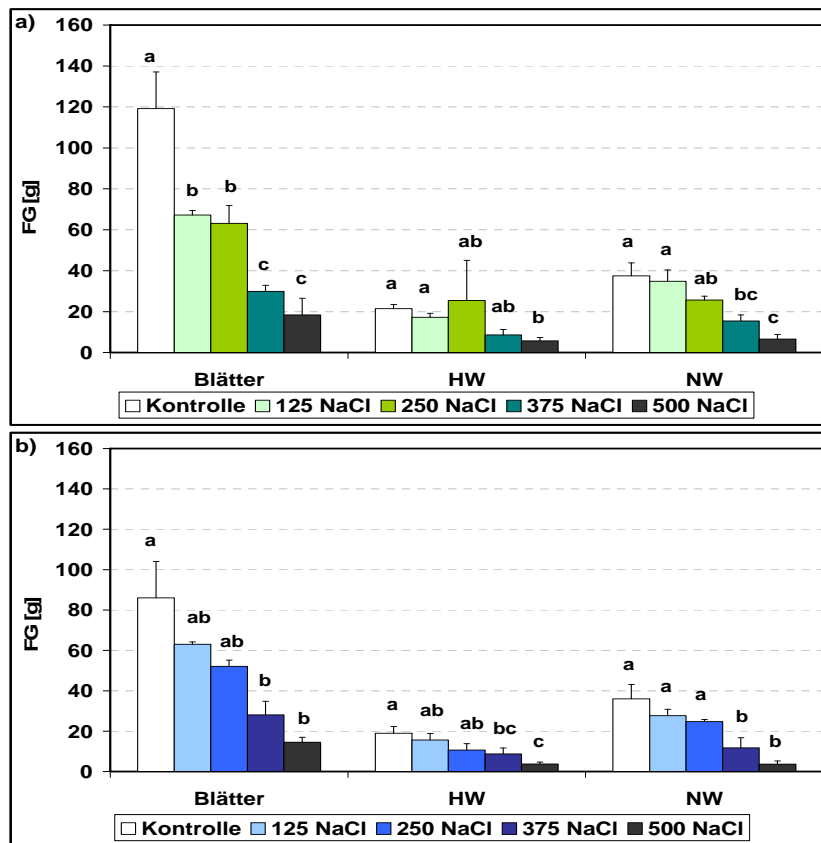


Abb. A1.5. Frischgewichte der Pflanzenorgane bei verschiedenen Salinitäten (Sommerkultur 2001). a) [CO₂]₃₈₀; b) [CO₂]₅₂₀.

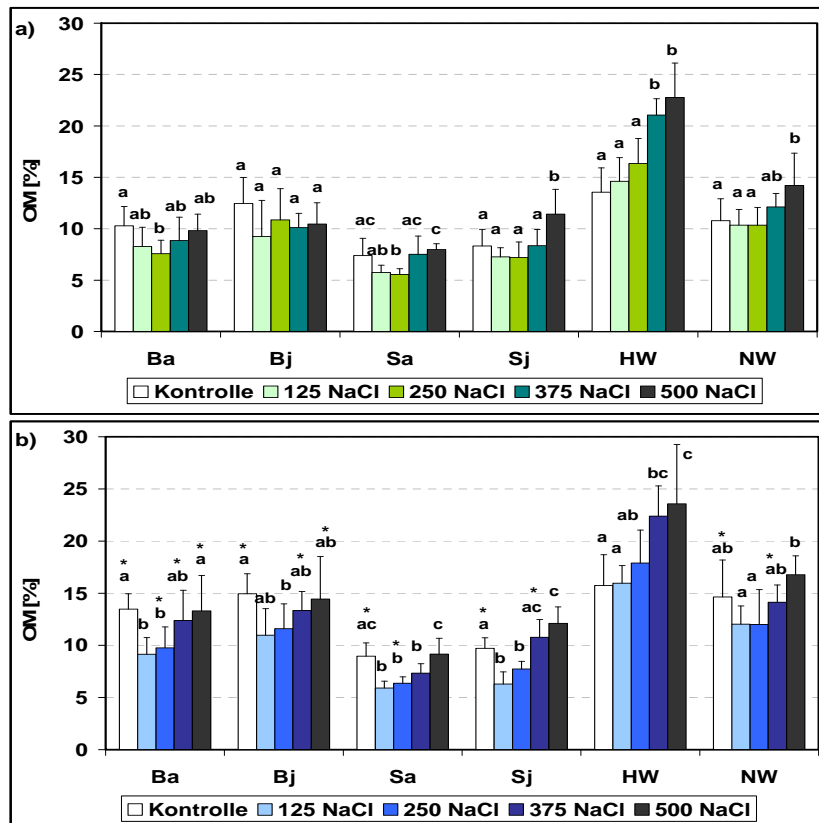


Abb. A1.6. Organische Matrix bei verschiedenen Salinitäten. a) [CO₂]₃₈₀; b) [CO₂]₅₂₀. Ba = adultes Blatt; Bj = juveniles Blatt; Sa = adulter Blattstiel; Sj = juveniler Blattstiel; HW = Hauptwurzel; NW = Nebenwurzel.

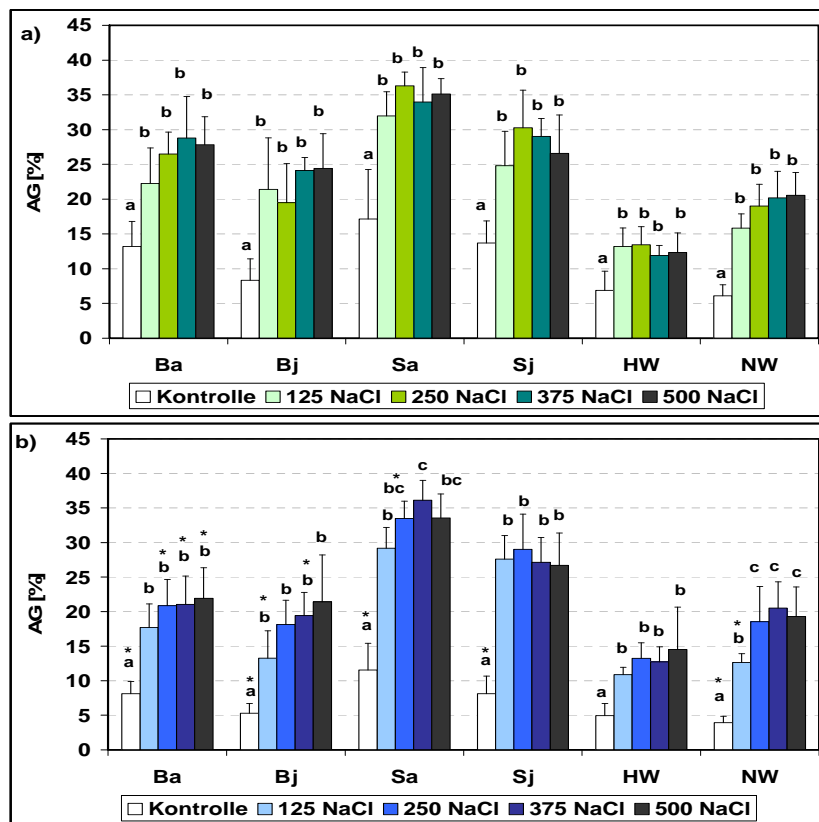


Abb. A1.7. Aschegewichtsanteil in % Trockengewicht bei verschiedenen Salinitäten. a) [CO₂]₃₈₀; b) [CO₂]₅₂₀.

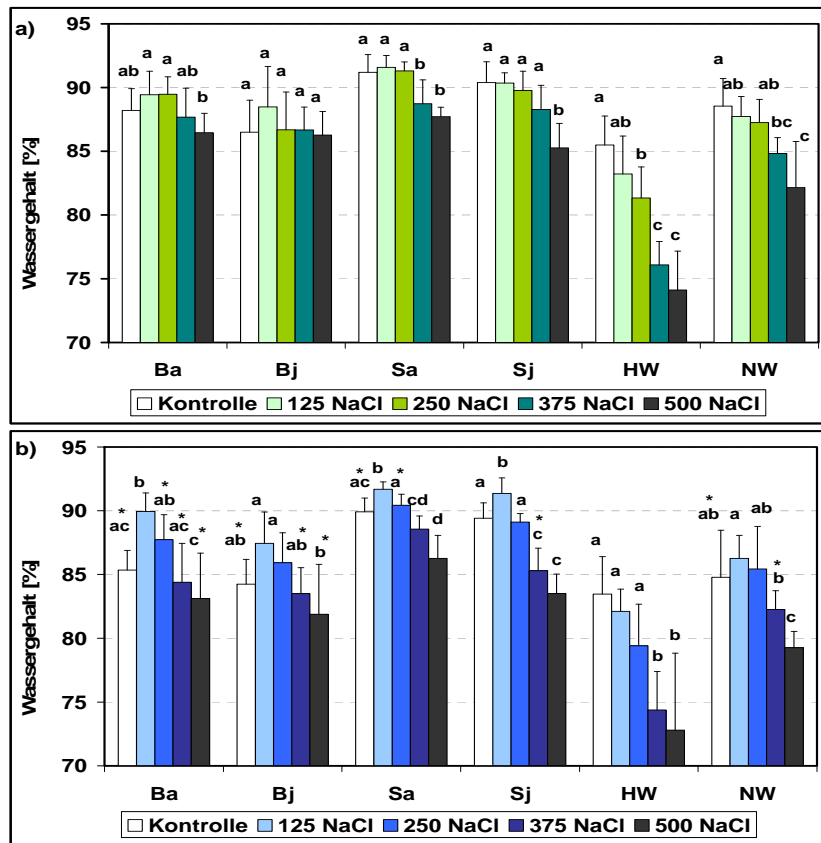


Abb. A1.8. Wassergehalt in % Frischgewicht bei verschiedenen Salinitäten. a) $[\text{CO}_2]_{380}$; b) $[\text{CO}_2]_{520}$.

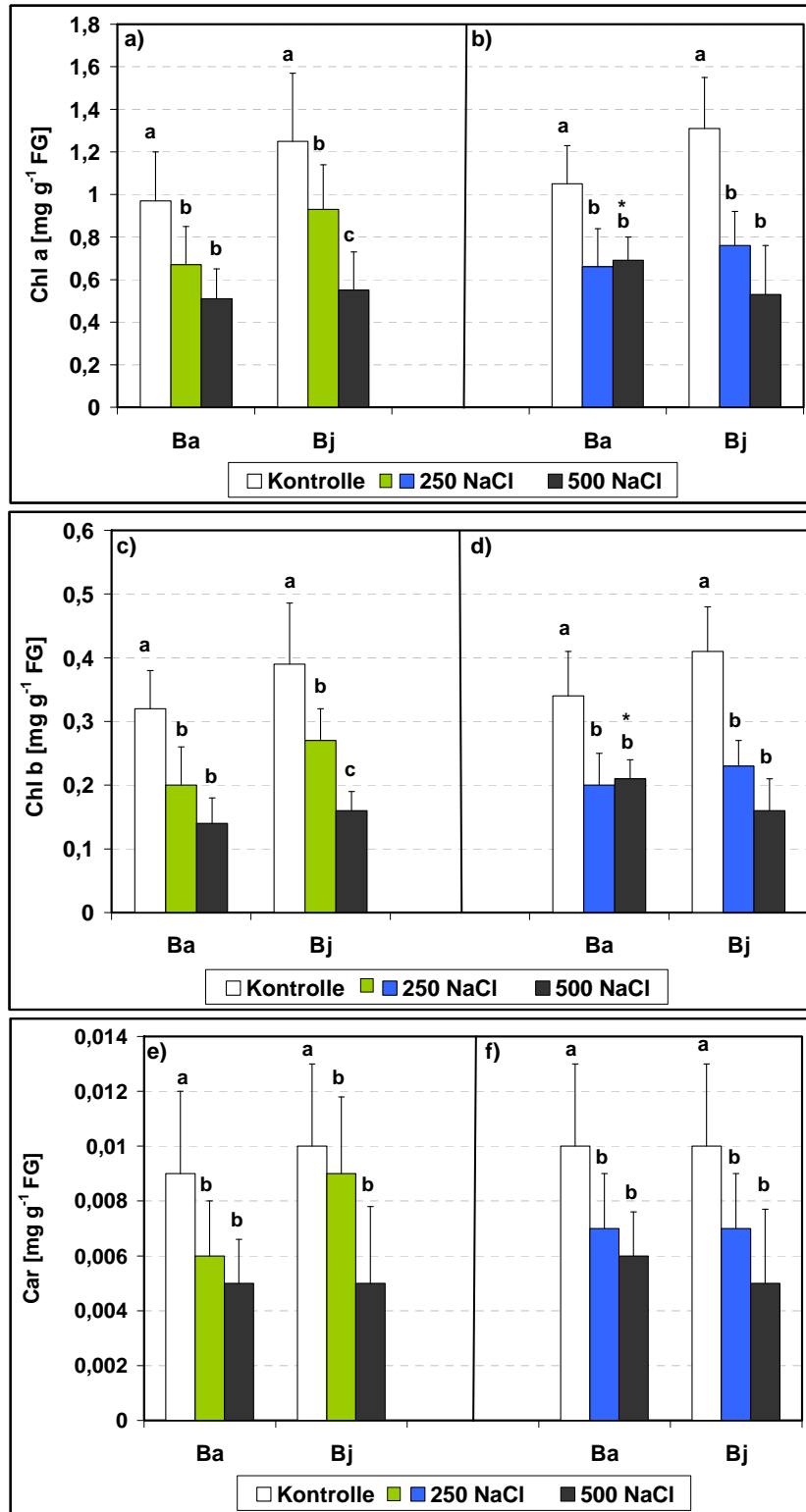


Abb. A1.9. Pigmentgehalte, bezogen auf das Frischgewicht, bei verschiedenen Salinitäten.
a), b) Chlorophyll-a-Gehalt; c), d) Chlorophyll-b-Gehalt; e), f) Carotinoidgehalt.
a), c), e) [CO₂]₃₈₀; b), d), f) [CO₂]₅₂₀.

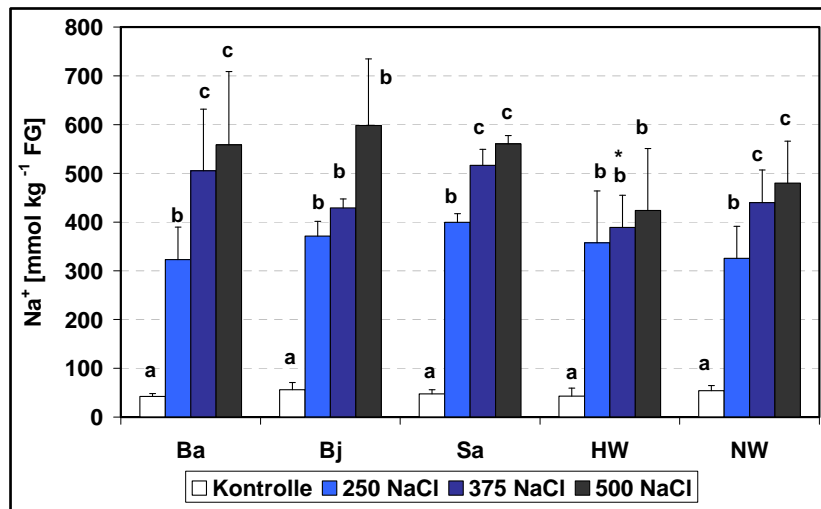


Abb. A1.10. Natriumgehalt bei verschiedenen Salinitäten unter $[\text{CO}_2]_{520}$.

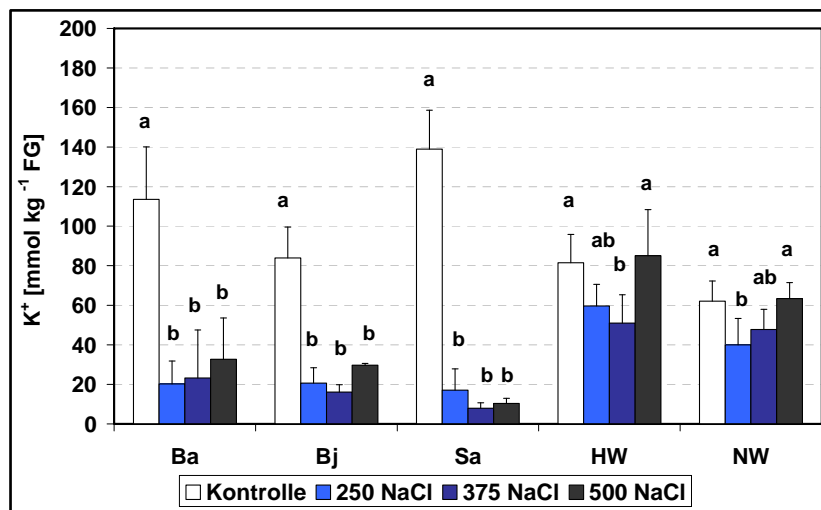


Abb. A1.11. Kaliumgehalt bei verschiedenen Salinitäten unter $[\text{CO}_2]_{520}$.

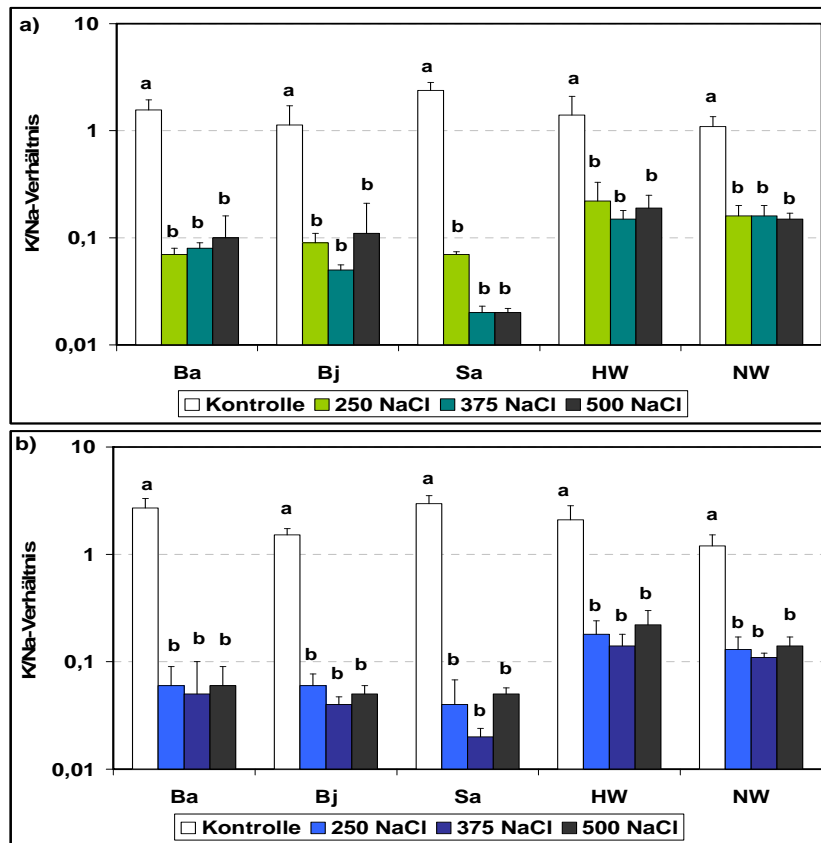


Abb. A1.12. Kalium/Natrium-Verhältnis bei verschiedenen Salinitäten. a) $[\text{CO}_2]_{380}$; b) $[\text{CO}_2]_{520}$.

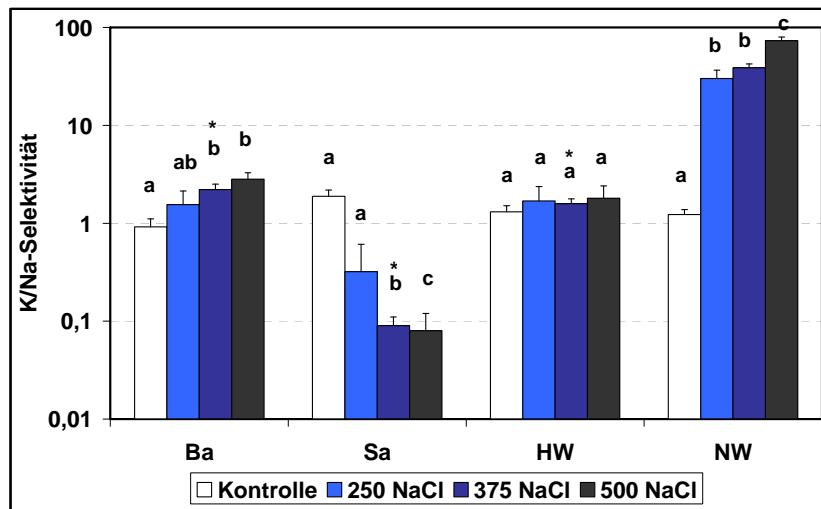


Abb. A1.13. Kalium/Natrium-Selektivität bei verschiedenen Salinitäten unter $[\text{CO}_2]_{520}$.

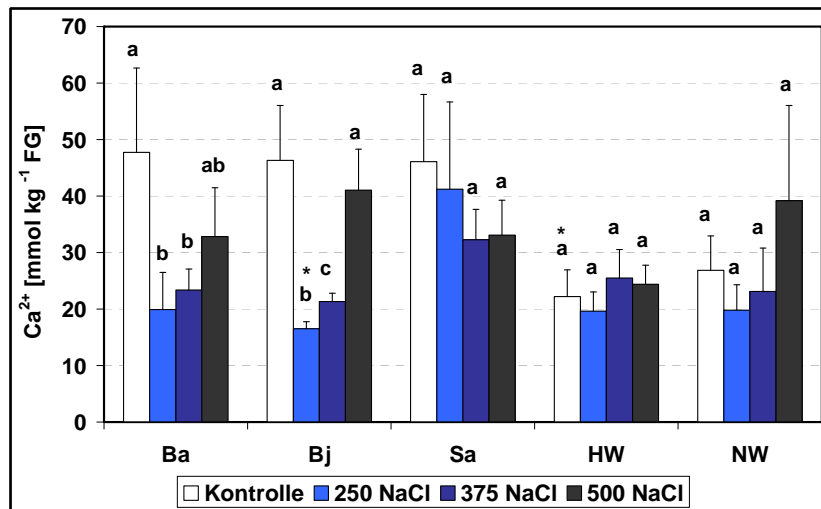


Abb. A1.14. Kalziumgehalt bei verschiedenen Salinitäten unter $[\text{CO}_2]_{520}$.

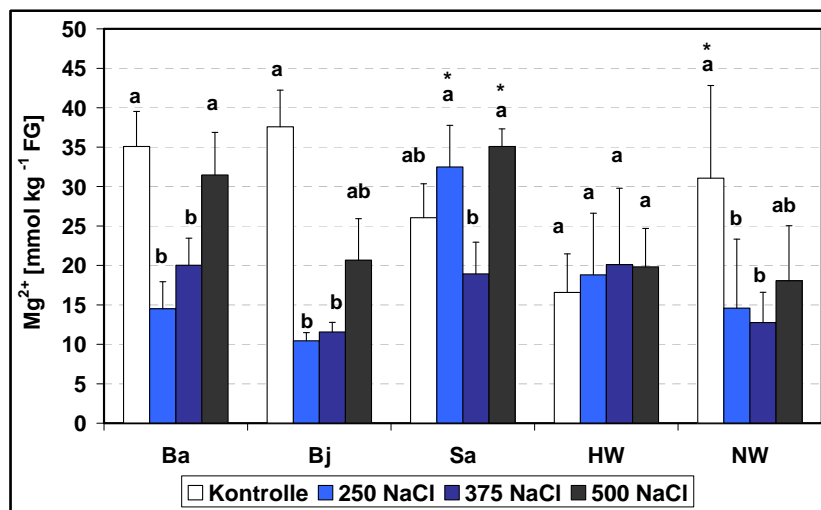


Abb. A1.15. Magnesiumgehalt bei verschiedenen Salinitäten unter $[\text{CO}_2]_{520}$.

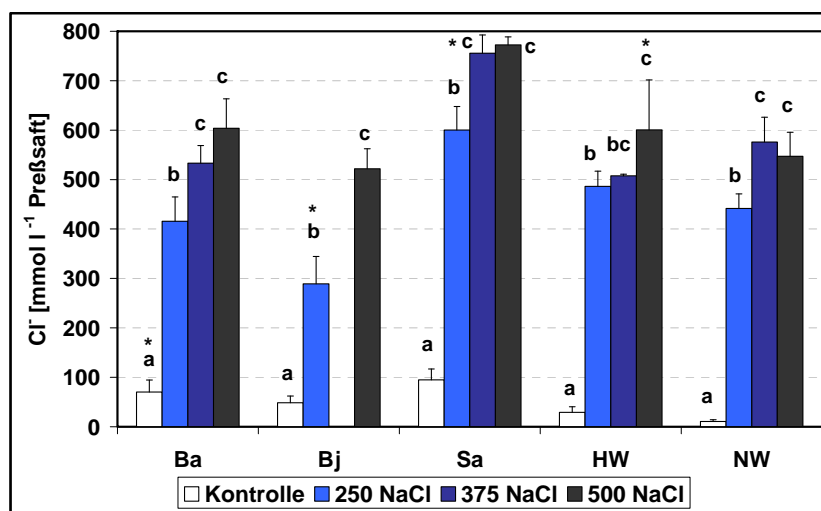


Abb. A1.16. Chloridgehalt bei verschiedenen Salinitäten unter $[\text{CO}_2]_{520}$.

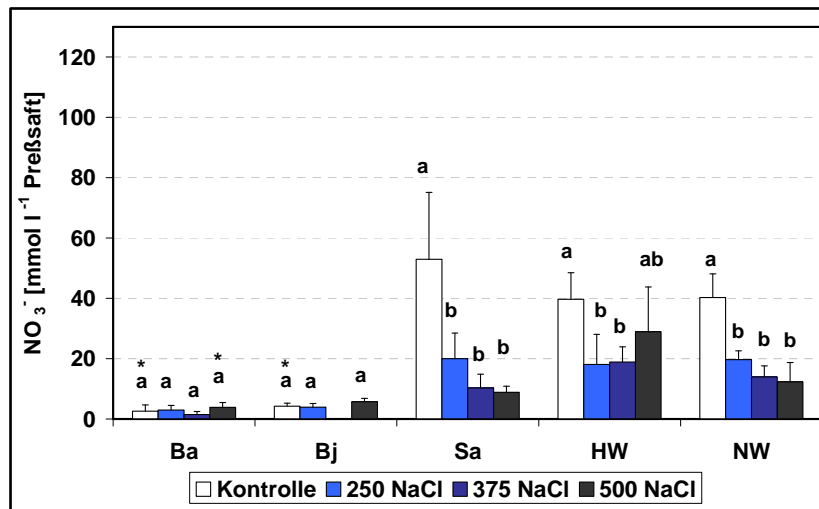


Abb. A1.17. Nitratgehalt bei verschiedenen Salinitäten unter $[\text{CO}_2]_{520}$.

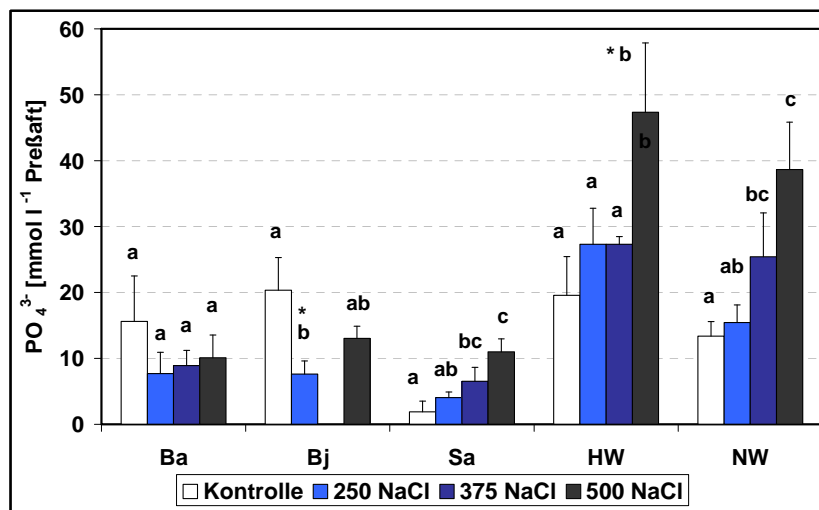


Abb. A1.18. Phosphatgehalt bei verschiedenen Salinitäten unter $[\text{CO}_2]_{520}$.

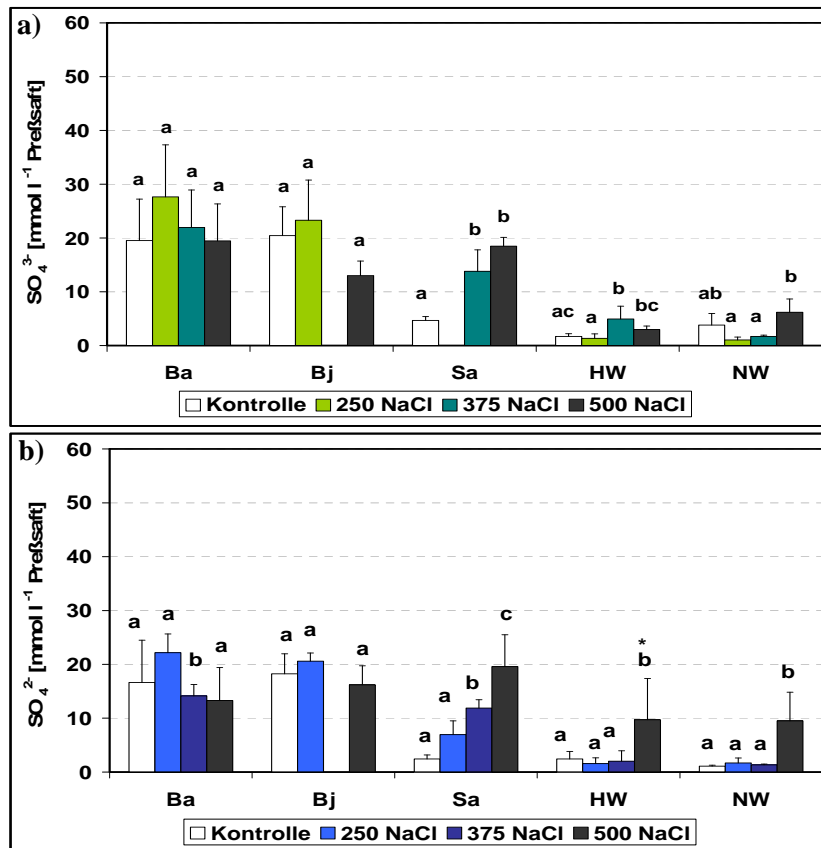


Abb. A1.19. Sulfatgehalt bei verschiedenen Salinitäten. a) $[\text{CO}_2]_{380}$; b) $[\text{CO}_2]_{520}$.

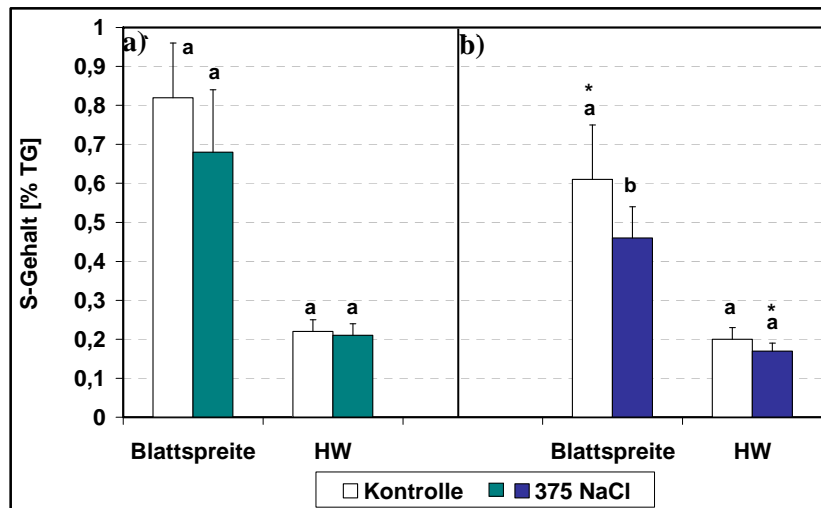


Abb. A1.20. Schwefelgehalt der Kontrollen und der 375 NaCl-Varianten. a) $[\text{CO}_2]_{380}$; b) $[\text{CO}_2]_{520}$.

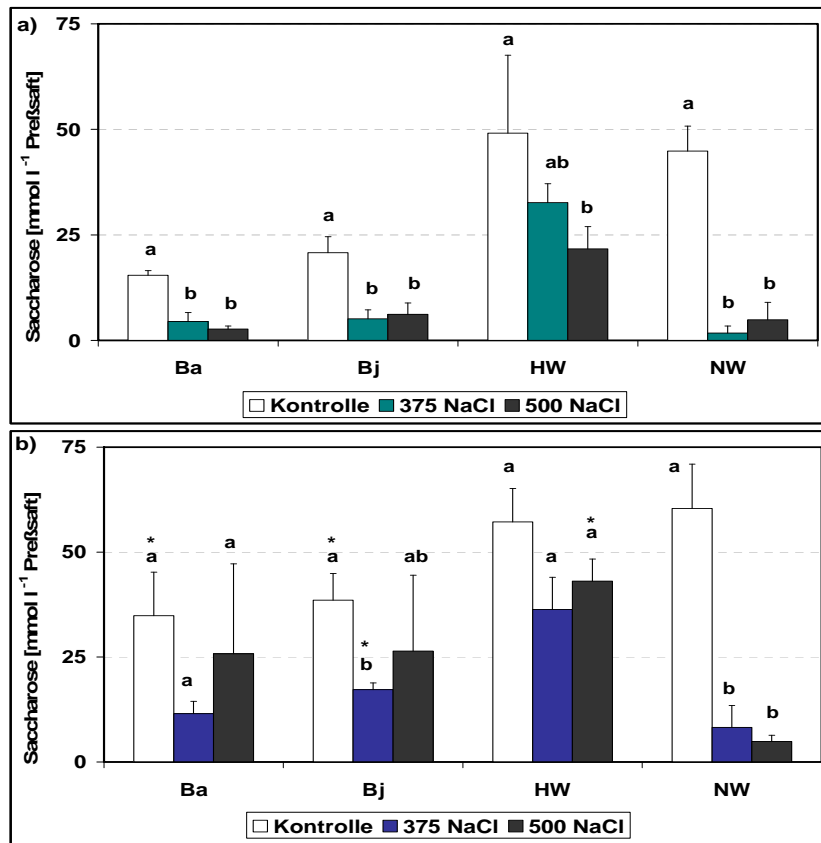


Abb. A1.21. Saccharosegehalt bei verschiedenen Salinitäten. a) [CO₂]₃₈₀; b) [CO₂]₅₂₀.

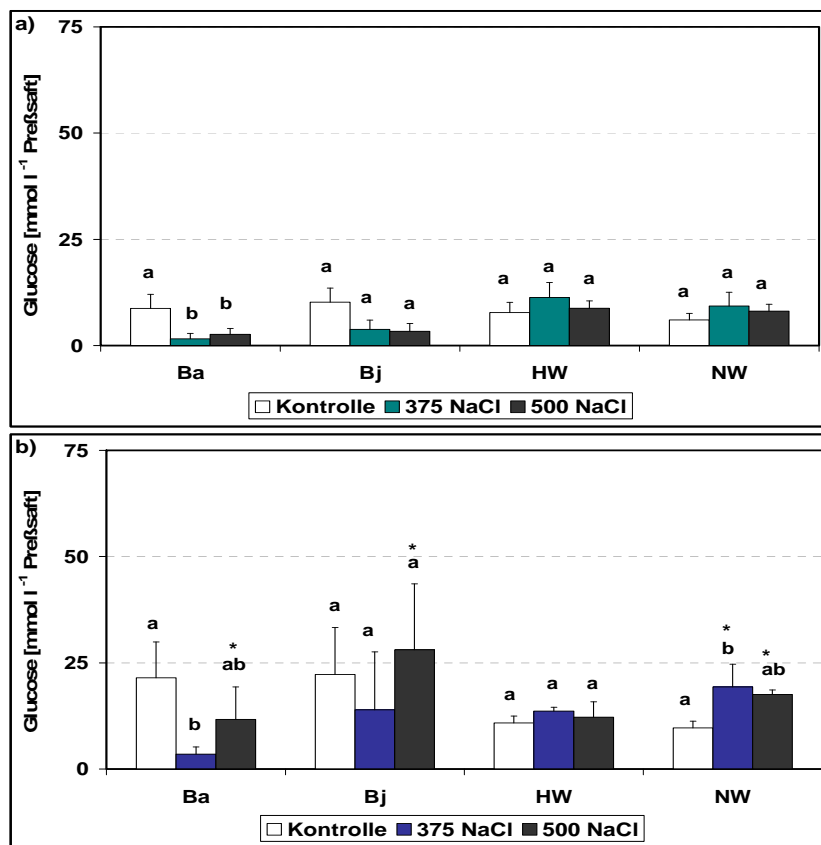


Abb. A1.22. Glucosegehalt bei verschiedenen Salinitäten. a) [CO₂]₃₈₀; b) [CO₂]₅₂₀.

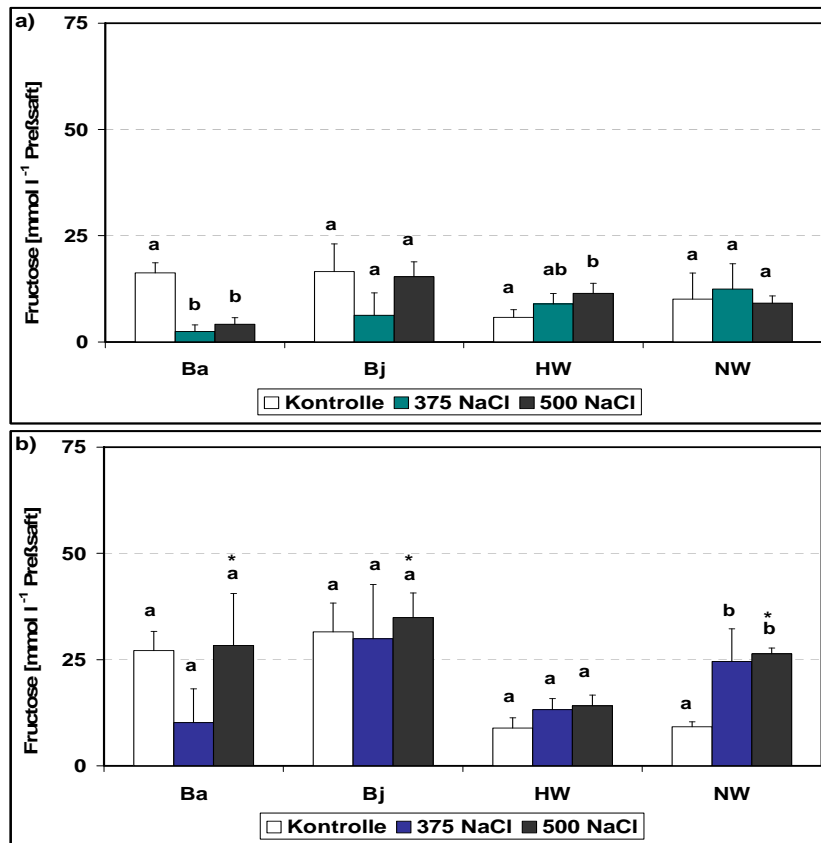
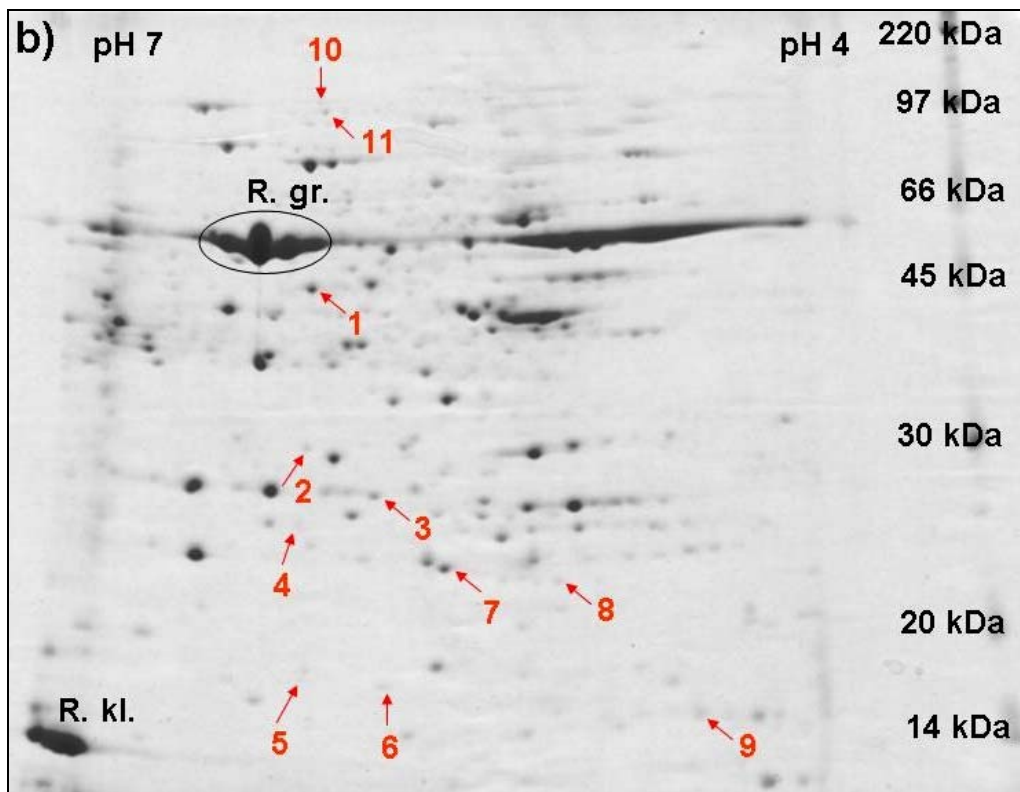
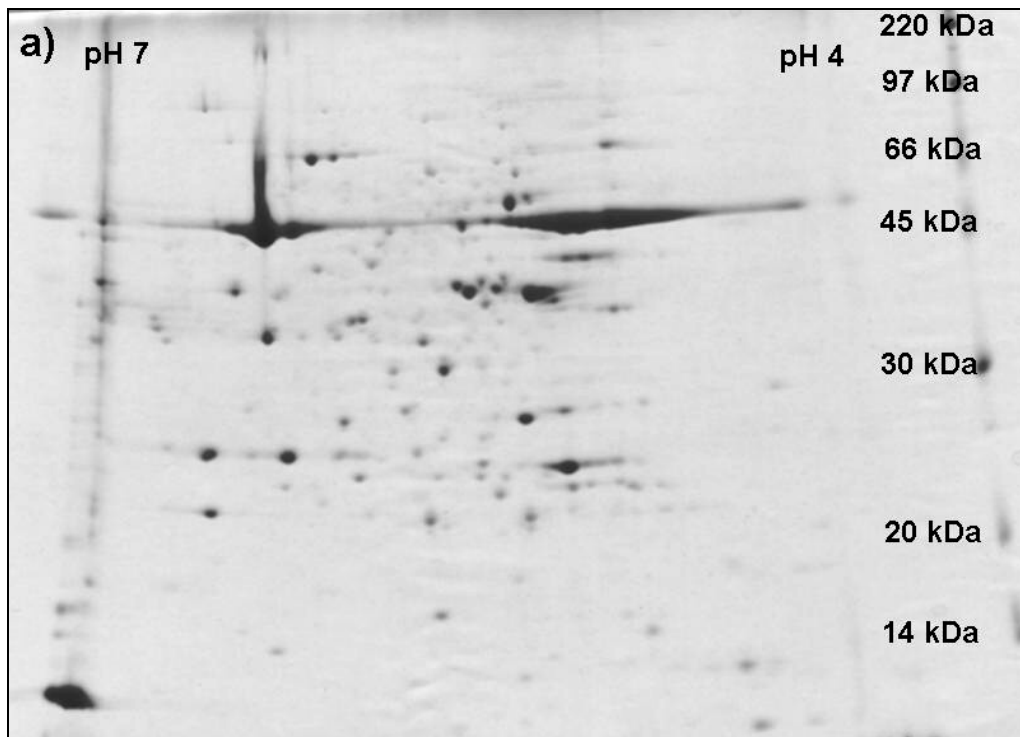


Abb. A1.23. Fructosegehalt bei verschiedenen Salinitäten. a) [CO₂]₃₈₀; b) [CO₂]₅₂₀.

Tab. A1.3. Gehalte einzelner Aminosäuren und Gesamt-Aminosäuregehalt in [$\mu\text{mol g TG}^{-1}$] sowie prozentualer Anteil von Prolin am Gesamt-Aminosäuregehalt bei verschiedenen Salinitäten unter $[\text{CO}_2]_{380}$ und $[\text{CO}_2]_{520}$.

Aminosäure	Ktr ₃₈₀ , Blattspreite	375 NaCl ₃₈₀ , Blattspreite	Ktr ₃₈₀ , Hauptwurzel	375 NaCl ₃₈₀ , Hauptwurzel	Ktr ₃₈₀ , Blattspreite	375 NaCl ₃₈₀ , Blattspreite	Ktr ₅₂₀ , Hauptwurzel	375 NaCl ₅₂₀ , Hauptwurzel
Arg	5,95 ±3,0	3,69 ±0,47	19,64 ±4,99	59,75 ±10,48	1,51 ±0,49	7,13 ±0,78	12,57 ±2,51	52,41 ±10,46
Asn	55,09 ±18,31	49,31 ±11,29	111,76 ±29,70	101,18 ±23,86	29,49 ±3,01	24,11 ±3,65	49,71 ±10,33	102,67 ±9,76
Gln	45,21 ±18,06	32,95 ±5,16	85,16 ±23,40	32,40 ±5,05	23,88 ±5,99	39,88 ±1,52	22,41 ±10,28	47,92 ±9,70
Ser	6,56 ±3,77	4,24 ±0,50	6,14 ±1,11	3,37 ±0,49	4,99 ±1,20	9,18 ±1,68	5,05 ±1,05	3,83 ±0,60
Asp	3,76 ±0,55	4,23 ±1,75	2,97 ±0,66	2,93 ±0,50	3,05 ±0,49	3,92 ±0,43	2,64 ±0,44	2,06 ±0,32
Glu	10,90 ±1,95	7,91 ±0,76	5,86 ±1,44	4,21 ±0,83	8,73 ±0,53	5,71 ±0,59	4,69 ±0,86	3,99 ±0,78
Thr	4,09 ±1,02	3,02 ±0,92	3,07 ±0,67	1,65 ±0,31	3,16 ±0,42	5,10 ±1,09	2,06 ±0,49	2,26 ±0,37
Gly	1,96 ±0,21	1,13 ±0,38	1,46 ±0,44	0,83 ±0,11	1,47 ±0,29	1,96 ±0,03	1,42 ±0,18	1,55 ±0,24
Ala	7,69 ±1,57	5,92 ±0,31	4,78 ±1,23	2,64 ±0,29	5,75 ±0,71	5,86 ±1,10	3,34 ±0,85	2,79 ±0,43
Val	4,23 ±1,13	3,47 ±0,65	2,79 ±0,66	3,17 ±0,71	3,59 ±0,91	6,01 ±0,78	2,27 ±0,41	5,20 ±0,52
Phe	1,75 ±0,58	1,43 ±0,24	0,43 ±0,14	1,59 ±0,46	0,74 ±0,26	1,28 ±0,49	0,22 ±0,11	1,28 ±0,17
Ile	2,56 ±0,30	3,25 ±0,42	1,48 ±0,40	1,69 ±0,27	3,30 ±0,67	6,53 ±2,47	1,26 ±0,28	3,33 ±1,11
Leu	2,10 ±0,27	1,39 ±0,37	1,48 ±0,35	1,32 ±0,31	2,04 ±0,53	1,65 ±0,56	1,09 ±0,12	2,25 ±0,65
Tyr	2,92 ±1,00	1,77 ±0,36	1,81 ±0,33	2,43 ±0,55	1,35 ±0,19	1,81 ±0,44	2,01 ±0,42	1,91 ±0,19
gesamt	159,60 ±28,36	166,85 ±34,74	262,08 ±40,25	289,06 ±31,97	95,42 ±10,85	182,02 ±20,66	156,56 ±23,93	310,85 ±55,71
Pro- Anteil [%]	3,0 ±0,8	25,8 ±5,4	4,89 ±1,1	24,1 ±4,7	2,5 ±0,4	33,9 ±4,9	8,1 ±1,5	24,9 ±3,6



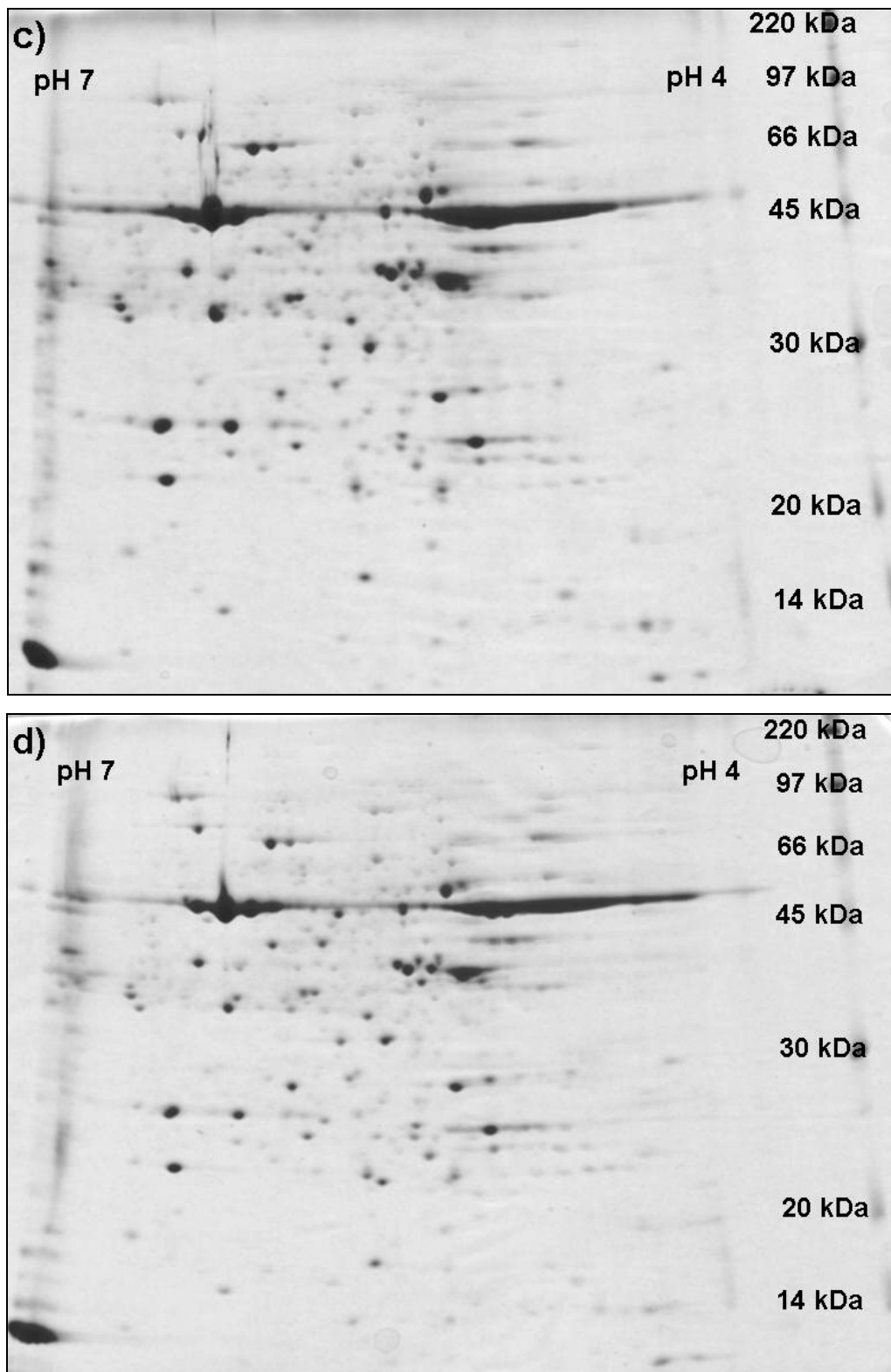


Abb. A1.24. Gele der Sommerkultur 2003. a) Kontrolle₃₈₀; b) 375 NaCl₃₈₀; c) Kontrolle₅₂₀; d) 375 NaCl₅₂₀. Die roten Pfeile und Zahlen markieren diejenigen Proteine, die zur genaueren Auswertung herangezogen wurden, da ihre Expression bei NaCl-Salinität und/oder erhöhter CO₂-Konzentration verstärkt war. „R. gr.“ (R. kl.) = große (kleine) Untereinheit der Rubisco.

Tab. A1.4. Effekt von Salinität und erhöhter CO₂-Konzentration auf die Proteinexpression.

Effekt von	Variante	Expression nicht mehr nachweisbar	Expression nachweisbar, aber reduziert	Summe der reduziert exprimierten Spots	Neu- expression	Expression erhöht	Summe der zunehmend exprimierten Spots	Expression unverändert
Salinität	[CO ₂] ₃₀₀	12%	34%	46%	9%	28%	37%	26%
	[CO ₂] ₅₂₀	6%	33%	39%	12%	28%	40%	33%
CO ₂ -Gabe	Kontrolle	16%	32%	48%	10%	21%	31%	31%
	375 NaCl	13%	27%	40%	8%	30%	38%	30%

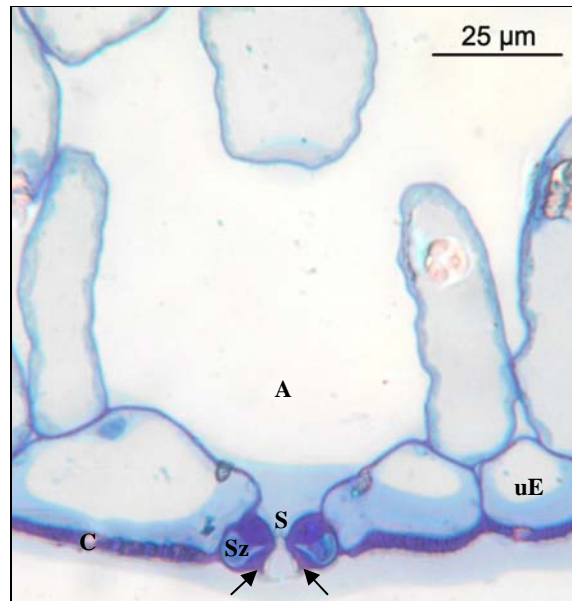


Abb. A1.25. Querschnitt durch Stoma (Helleborus-Typ) und Atemhöhle in der unteren Epidermis einer Kontrollvariante. uE = untere Epidermis; C = Cuticula; S = Stoma; Sz = Schließzelle; A = Atemhöhle; Pfeile zeigen auf hörnchenförmige Wachsfortsätze.

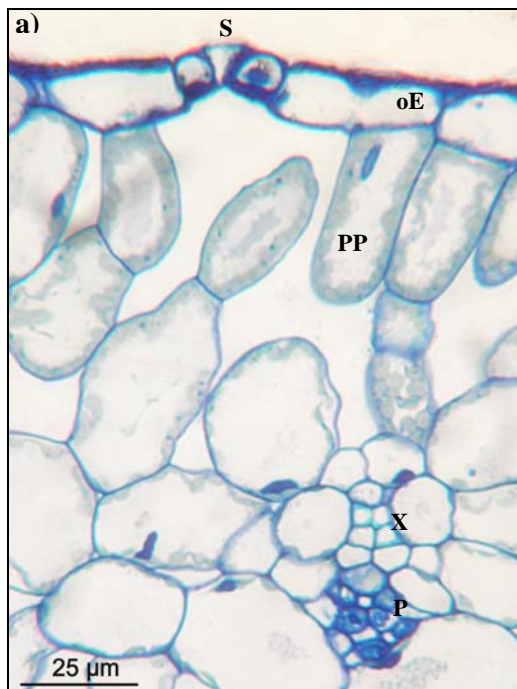


Abb. A1.26. Querschnitt durch Palisadenparenchym und Leitbündel. a) Kontrolle; b) 375 NaCl. oE = obere Epidermis; PP = Palisadenparenchym; X = Xylem; P = Phloem; S = Stoma.

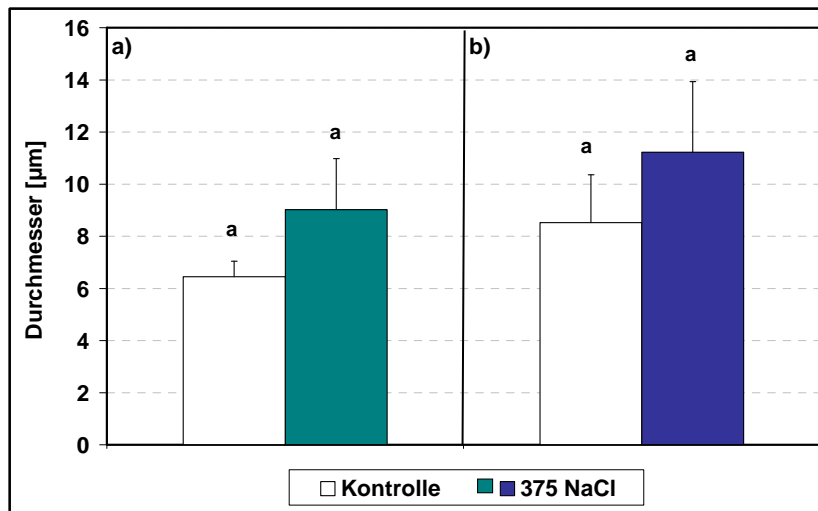


Abb. A1.27. Durchmesser der Metaxylem-Gefäße bei den Kontrollen und bei den 375 NaCl-Varianten. a) [CO₂]₃₈₀; b) [CO₂]₅₂₀.

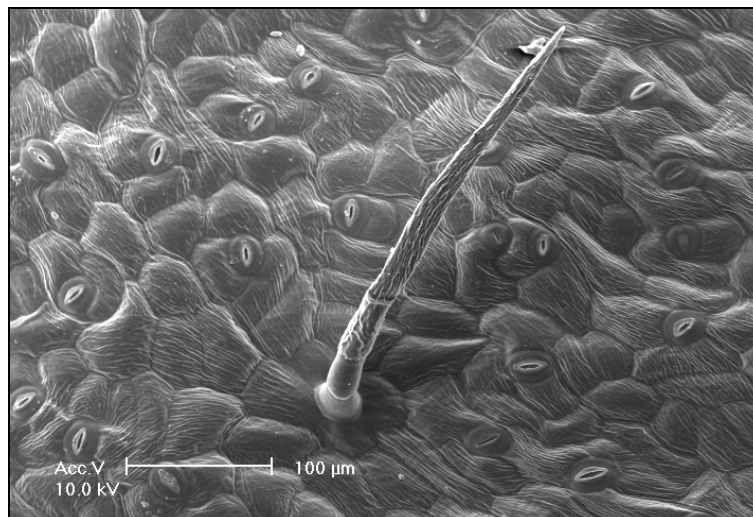


Abb. A1.28. Haar in der oberen Epidermis. Es besteht aus einer Sockelzelle, zwei kürzeren und einer langen, zugespitzten Zelle.

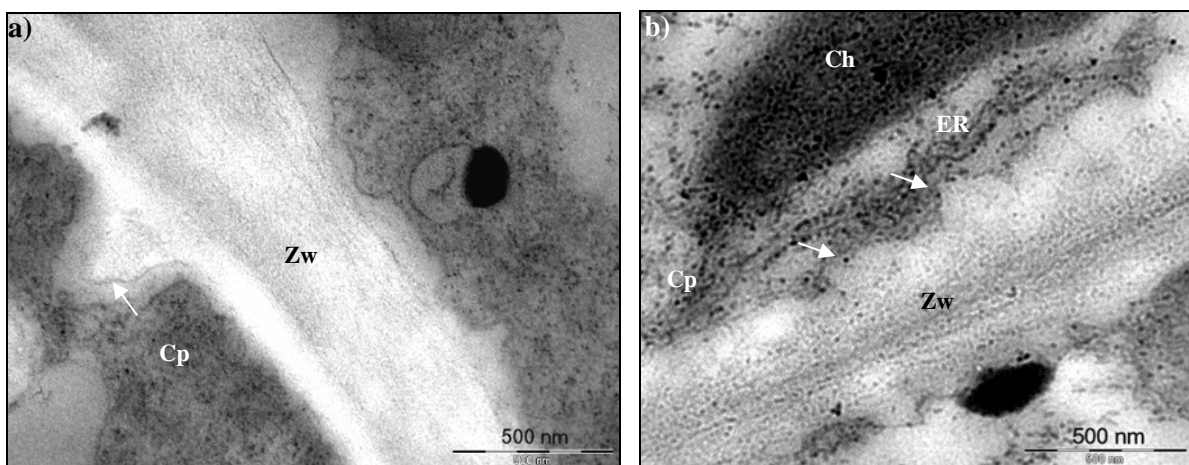


Abb. A1.29. Zellwände im Palisadenparenchym mit Protuberanzen (Pfeile). a) Kontrolle; b) 375 NaCl. Zw = Zellwand; Cp = Cytoplasma; Ch = Chloroplast; ER = Raues Endoplasmatisches Reticulum.

ANHANG 2

Versuchsergebnisse (Mittelwerte und Standardabweichungen) der beiden Winterkulturen

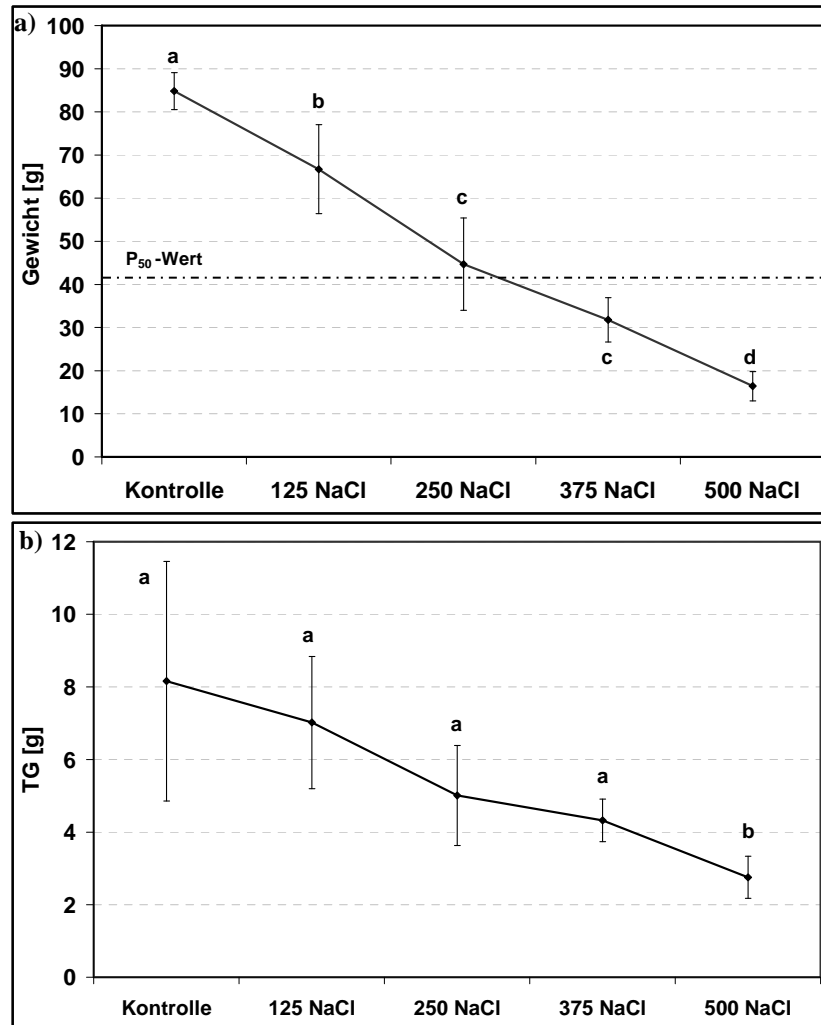


Abb. A2.1. Gesamt-Biomasse pro Pflanze bei verschiedenen Salinitäten.
a) Frischgewicht; b) Trockengewicht. Unterschiedliche Buchstaben bedeuten signifikante Unterschiede zwischen den Salinitäten ($p \leq 0,05$).

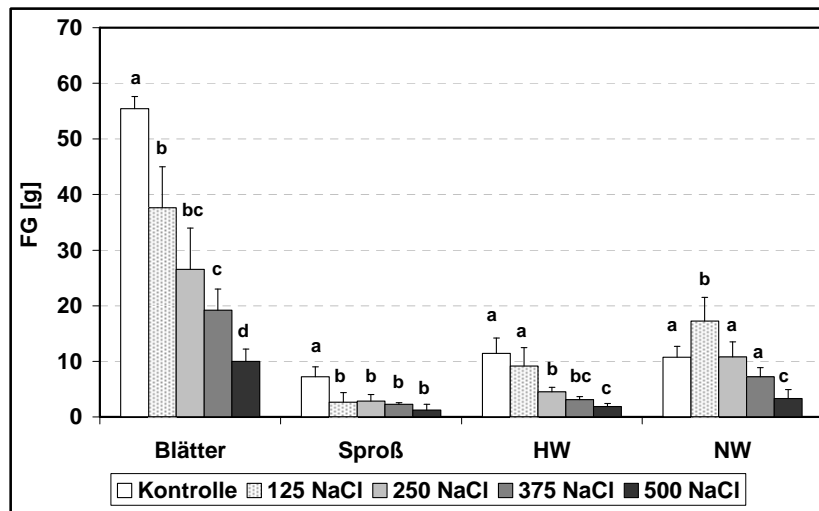


Abb. A2.2. Frischgewichte der Pflanzenorgane bei verschiedenen Salinitäten.
HW = Hauptwurzel; NW = Nebenwurzel.

Tab. A2.1. Blattanzahl, Blattfläche und Sproß-Wurzel-Verhältnis bei verschiedenen Salinitäten.
Unterschiedliche Buchstaben bedeuten signifikante Unterschiede zwischen den Salinitäten ($p \leq 0,05$).

	Blattanzahl	Fläche/Blatt (adult) [cm ²]	Fläche/Blatt (juvenil) [cm ²]	Sproß/Wurzel- Verhältnis
Kontrolle	67 ±9 <i>a</i>	86,43 ±12,76 <i>a</i>	34,59 ±7,26 <i>a</i>	2,88 ±0,39 <i>a</i>
125 NaCl	35 ±9 <i>b</i>	73,19 ±11,85 <i>ab</i>	21,54 ±4,67 <i>a</i>	1,53 ±0,28 <i>b</i>
250 NaCl	29 ±17 <i>b</i>	59,53 ±11,56 <i>bc</i>	17,82 ±3,25 <i>bc</i>	1,92 0,46 <i>ab</i>
375 NaCl	27 ±5 <i>b</i>	48,34 ±11,73 <i>c</i>	14,19 ±2,99 <i>bc</i>	2,11 ±0,51 <i>ab</i>
500 NaCl	18 ±9 <i>b</i>	42,68 ±11,07 <i>c</i>	11,10 ±8,01 <i>c</i>	2,43 ±1,11 <i>ab</i>

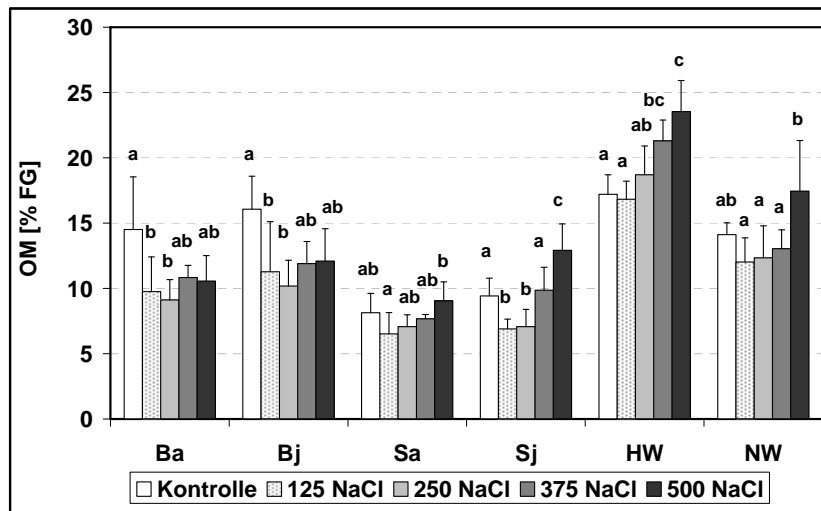


Abb. A2.3. Organische Matrix bei verschiedenen Salinitäten. Ba = adultes Blatt; Bj = juveniles Blatt; Sa = adulter Blattstiel; Sj = juveniler Blattstiel; HW = Hauptwurzel; NW = Nebenwurzel.

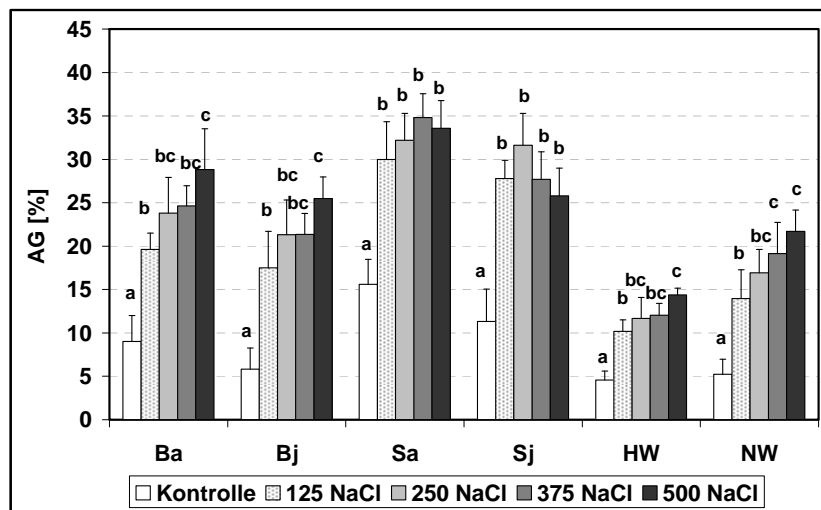


Abb. A2.4. Aschegewichtsanteil in % Trockengewicht bei verschiedenen Salinitäten.

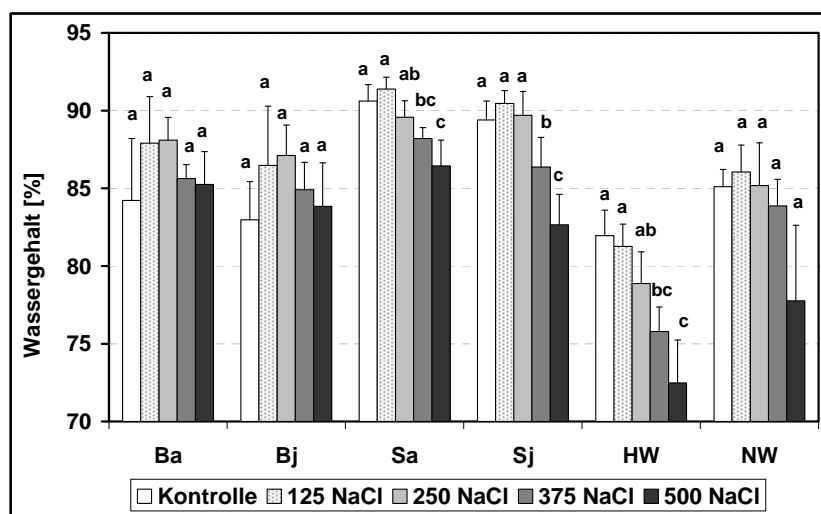


Abb. A2.5. Wassergehalt in % Frischgewicht bei verschiedenen Salinitäten.

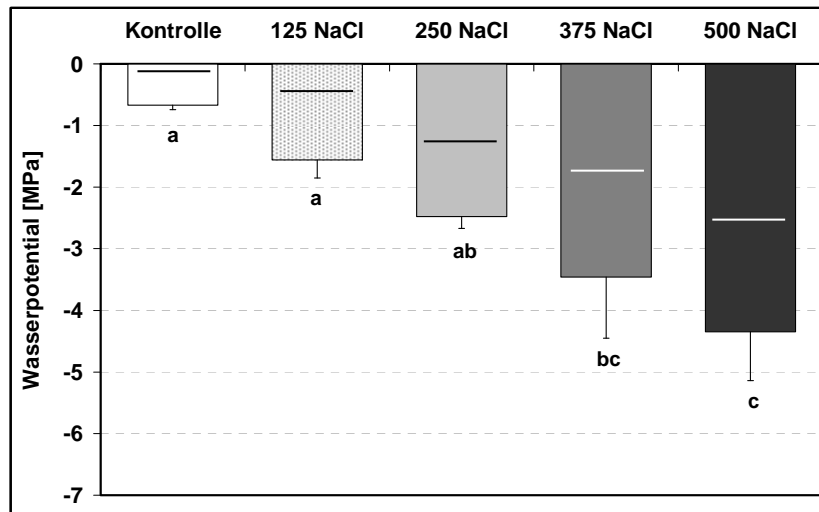


Abb. A2.6. Wasserpotential junger, voll entwickelter Blätter bei verschiedenen Salinitäten. Die Linien innerhalb der Säulen zeigen das Wasserpotential der Nährlösung an.

Tab. A2.2. Gaswechselfparameter bei verschiedenen Salinitäten (Messung bei einer Lichtstärke von 200-300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). A = Nettophotosyntheserate; E = Transpiration; R_s = Stomatärer Widerstand; WUE = Wassernutzungseffizienz der Photosynthese; C_i = Blattinterne CO_2 -Konzentration; DA = Dunkelatmung.

	A [$\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$]	E [$\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$]	R_s [s cm^{-1}]	WUE [$\mu\text{mol CO}_2 * \text{mmol}^{-1} \text{H}_2\text{O}$]	C_i [ppm]	DA [$\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$]
Kontrolle	9,80 $\pm 2,10$ a	3,72 $\pm 1,4$ a	2,49 $\pm 0,85$ a	3,75 $\pm 1,57$ a	312,3 $\pm 44,8$ a	-2,22 $\pm 0,61$ a
125 NaCl	5,57 $\pm 2,75$ b	0,79 $\pm 0,37$ b	15,75 $\pm 4,88$ b	9,84 $\pm 3,76$ b	188,2 $\pm 31,19$ b	
250 NaCl	4,16 $\pm 1,58$ bc	0,56 $\pm 0,21$ b	16,2 $\pm 4,66$ b	8,19 $\pm 2,73$ b	202,1 $\pm 40,2$ b	
375 NaCl	5,17 $\pm 1,25$ bc	1,02 $\pm 0,35$ b	11,53 $\pm 1,87$ b	5,85 $\pm 2,02$ cd	242,3 $\pm 35,3$ b	
500 NaCl	3,79 $\pm 1,93$ c	0,73 $\pm 0,27$ b	15,87 $\pm 5,89$ b	5,30 $\pm 1,53$ d	211,6 $\pm 47,7$ b	-3,40 $\pm 1,83$ b

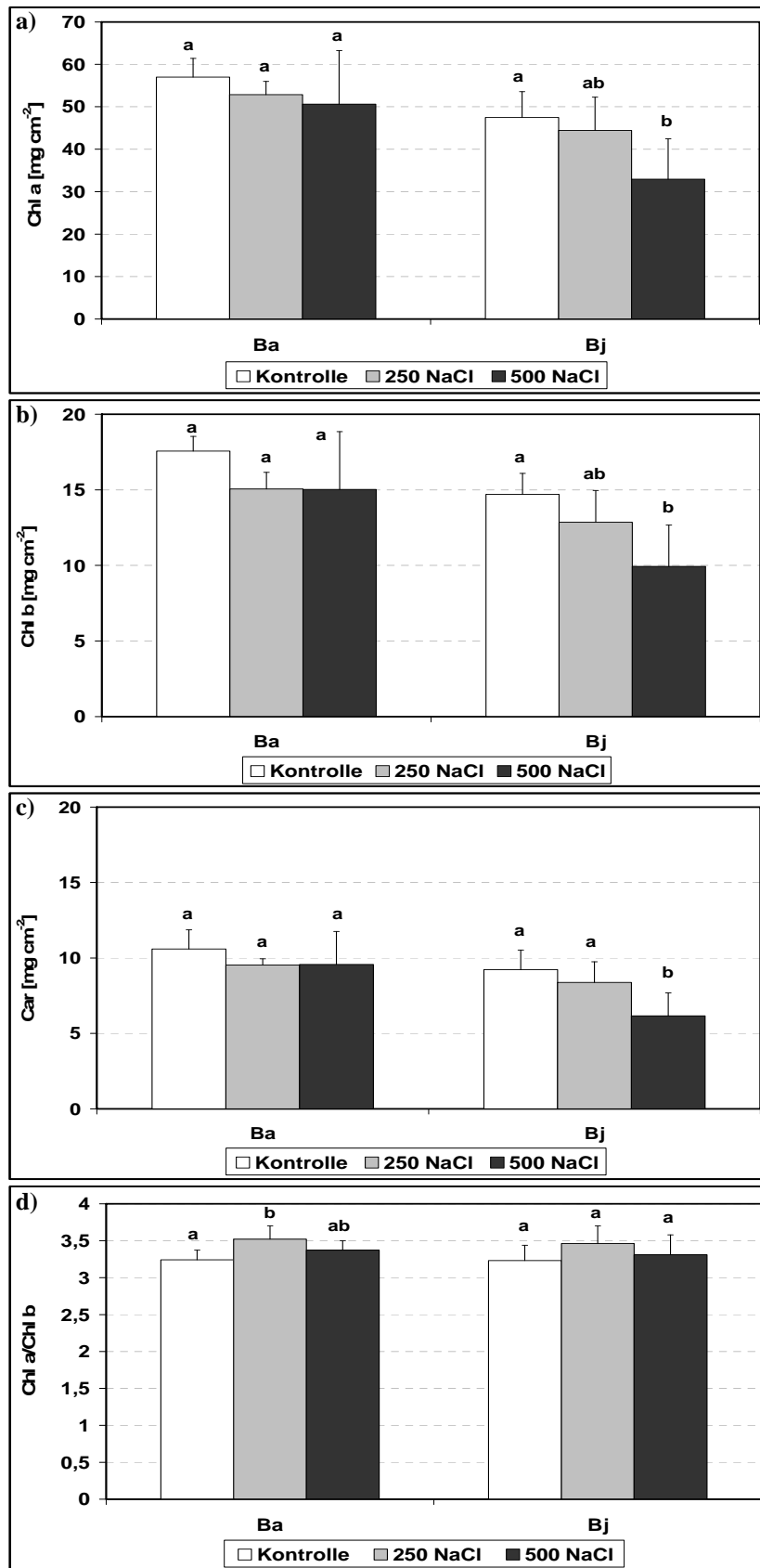


Abb. A2.7. Pigmentgehalte, bezogen auf die Blattfläche, bei verschiedenen Salinitäten.
a) Chlorophyll-a-Gehalt; b) Chlorophyll-b-Gehalt; c) Carotinoid-Gehalt; d) Chlorophyll a/Chlorophyll b-Verhältnis.

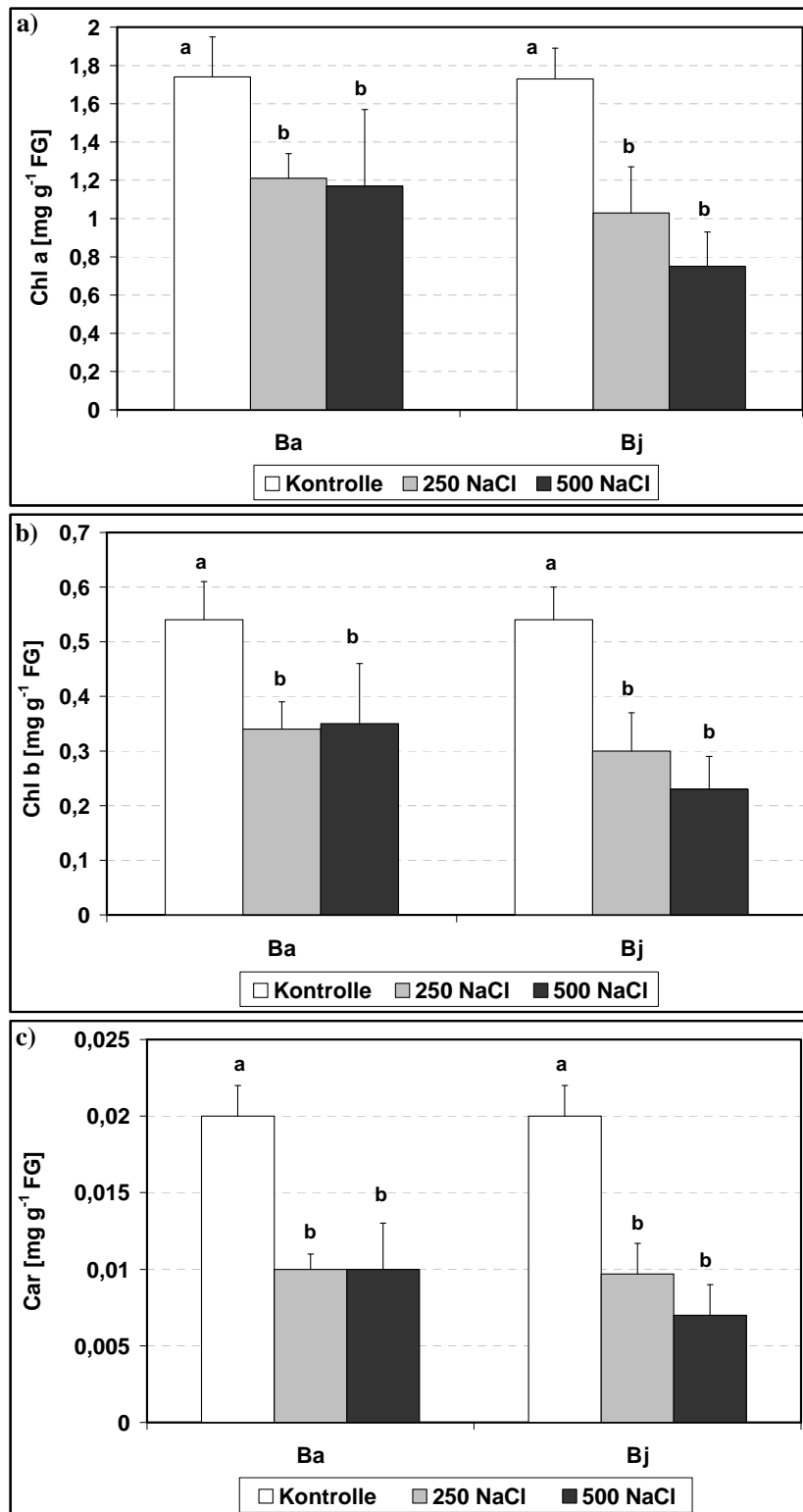


Abb. A2.8. Pigmentgehalte, bezogen auf das Frischgewicht, bei verschiedenen Salinitäten.
a) Chlorophyll a-Gehalt; b) Chlorophyll b-Gehalt; c) Carotinoid-Gehalt.

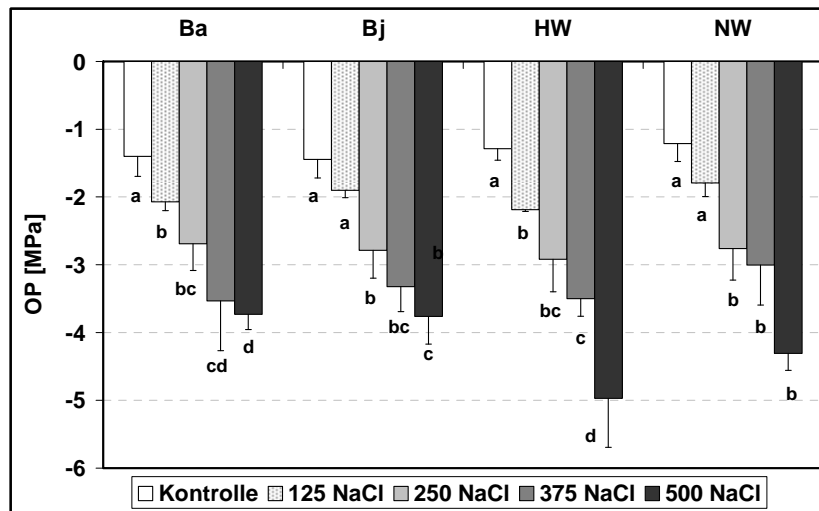


Abb. A2.9. Osmotisches Potential bei verschiedenen Salinitäten.

Tab. A2.3. Differenz zwischen dem Wasserpotential und dem osmotischen Potential (annähernd = Turgordruck) bei verschiedenen Salinitäten.

	normal-CO ₂
Kontrolle	0,77
125 NaCl	0,34
250 NaCl	0,30
375 NaCl	-0,14
500 NaCl	-0,59

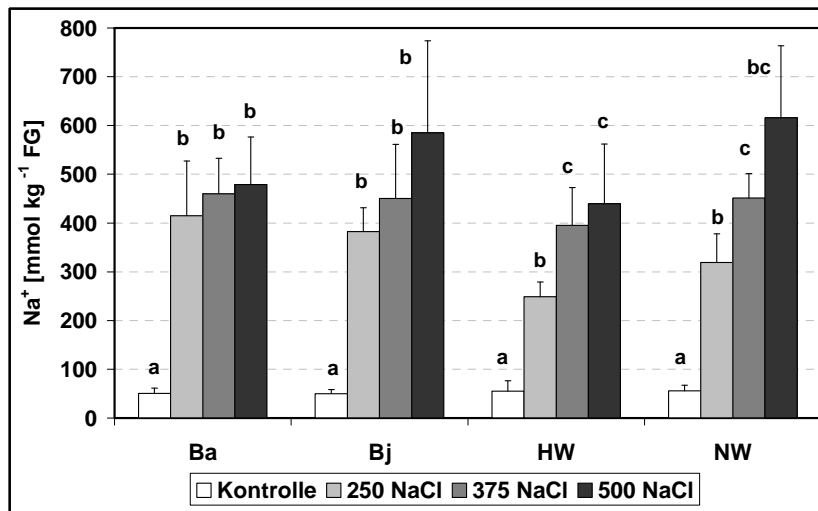


Abb. A2.10. Natriumgehalt bei verschiedenen Salinitäten.

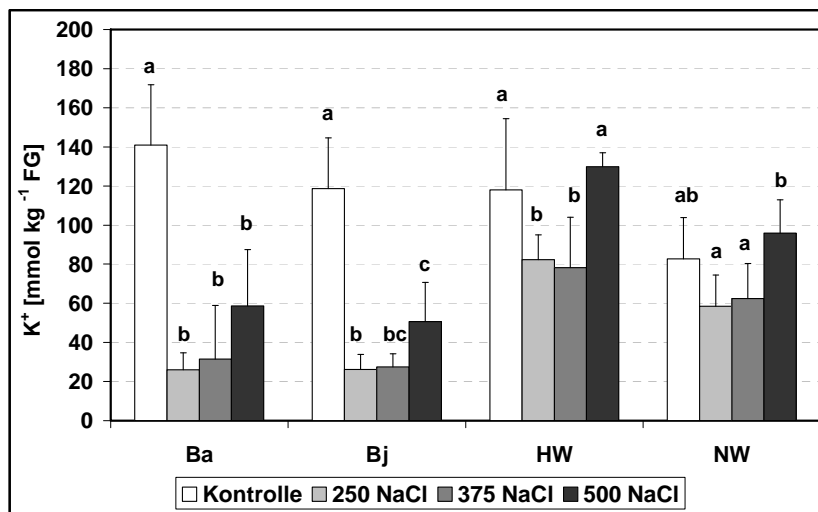


Abb. A2.11. Kaliumgehalt bei verschiedenen Salinitäten.

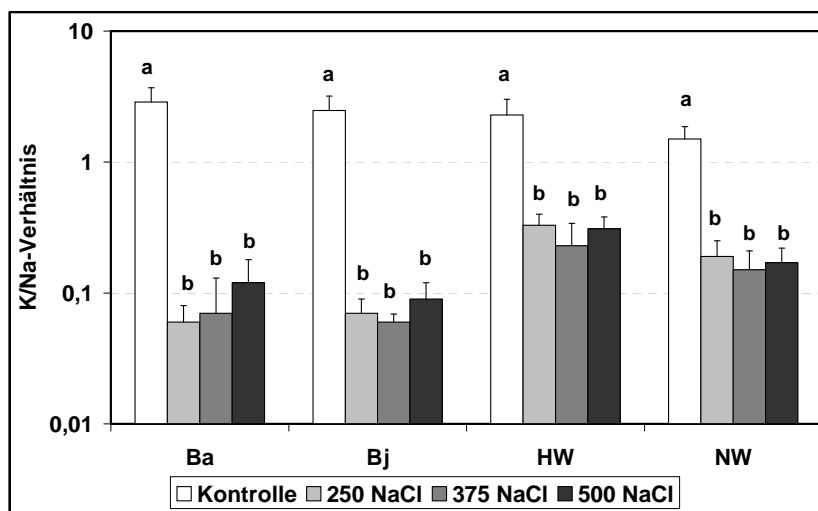


Abb. A2.12. Kalium/Natrium-Verhältnis bei verschiedenen Salinitäten.

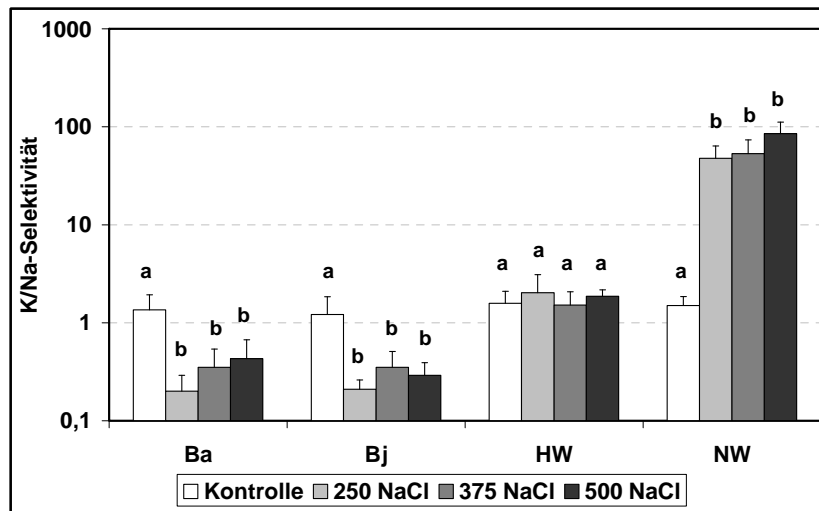


Abb. A2.13. Kalium/Natrium-Selektivität bei verschiedenen Salinitäten.

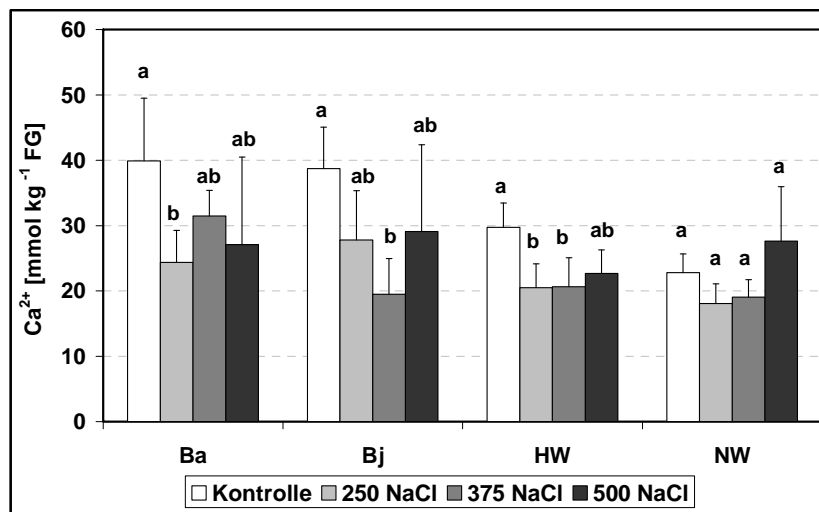


Abb. A2.14. Kalziumgehalt bei verschiedenen Salinitäten.

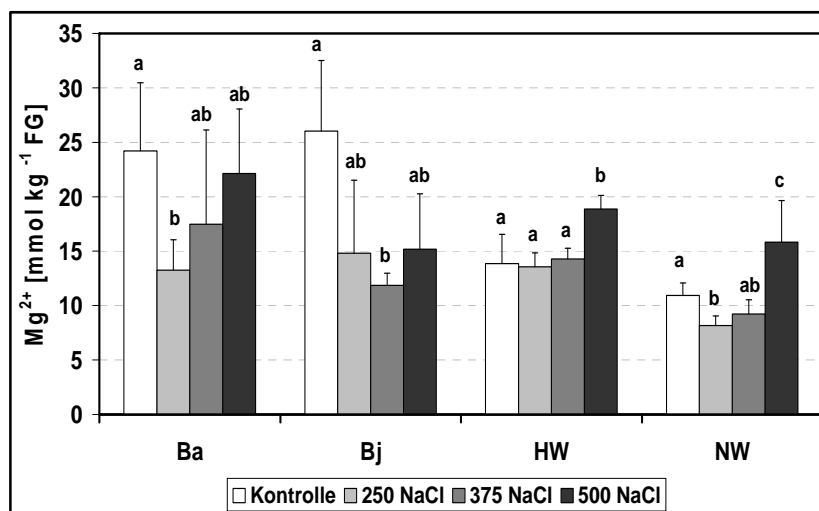


Abb. A2.15. Magnesiumgehalt bei verschiedenen Salinitäten.

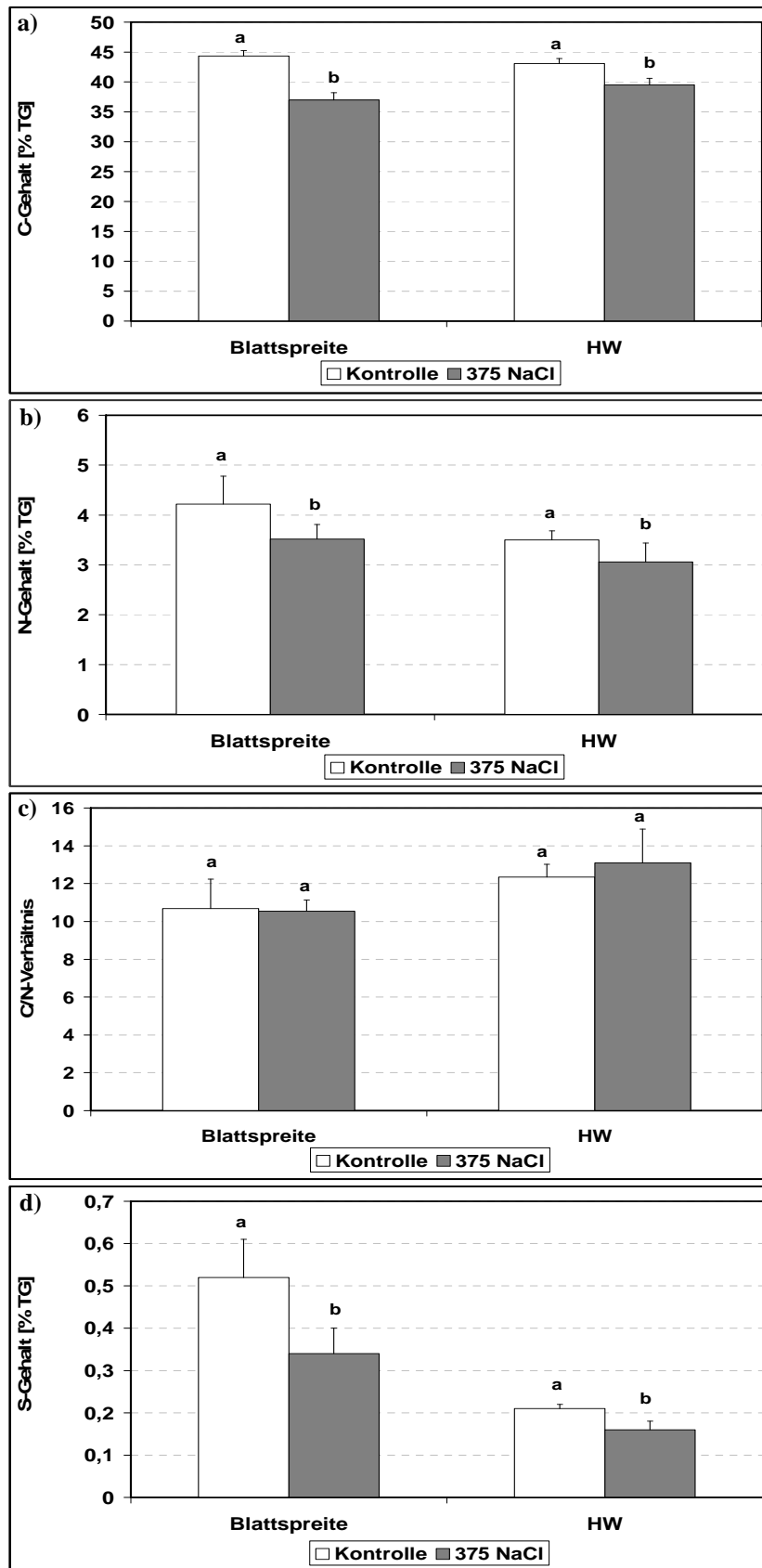


Abb. A2.16. Kohlenstoff-, Stickstoff- und Schwefelgehalt der Kontrollen und der 375 NaCl-Varianten. a) C-Gehalt; b) N-Gehalt; c) C/N-Verhältnis; d) S-Gehalt.

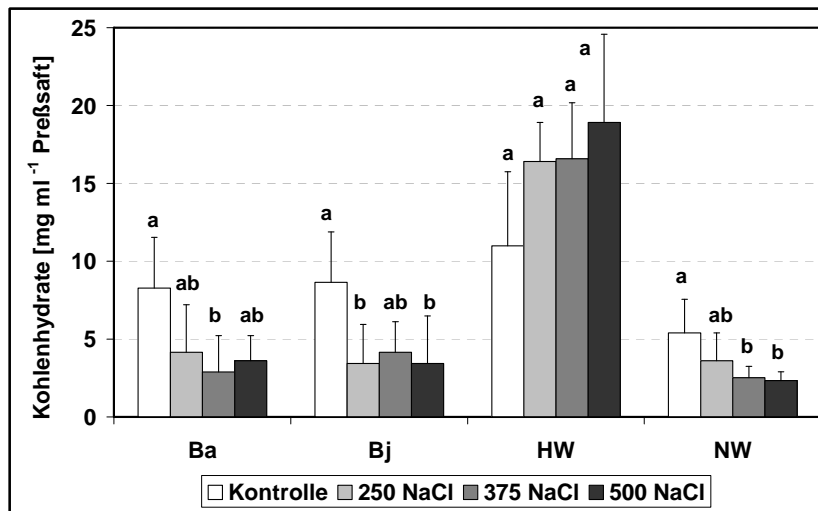


Abb. A2.17. Gehalt an löslichen Gesamt-Kohlenhydraten bei verschiedenen Salinitäten.

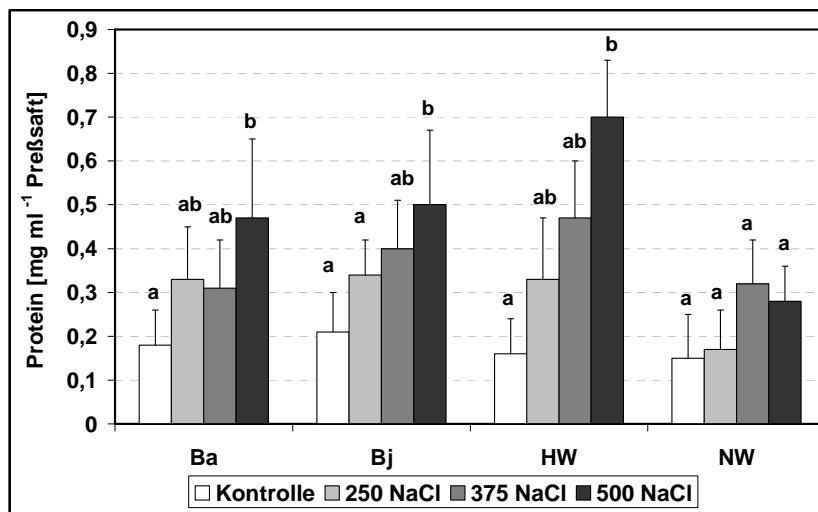


Abb. A2.18. Gehalt an löslichem Gesamt-Protein bei verschiedenen Salinitäten.

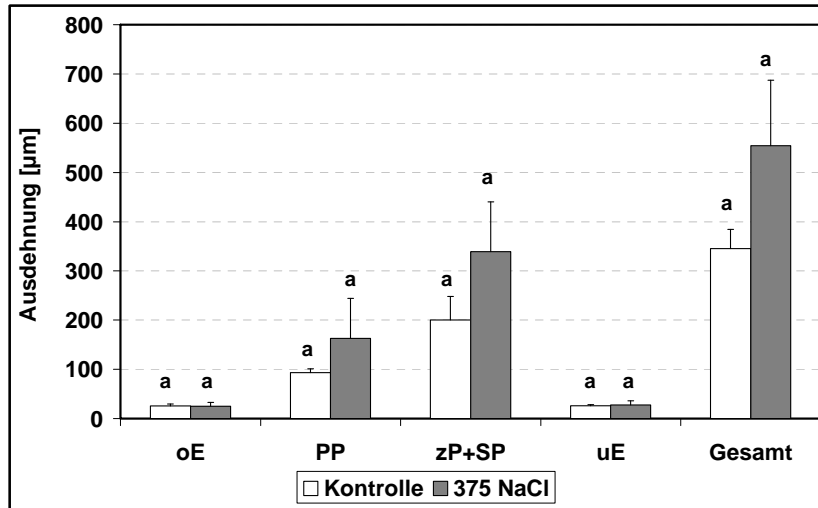


Abb. A2.19. Vertikale Ausdehnung der einzelnen Blattgewebe und des gesamten Blattes im Querschnitt bei den Kontrollen und bei 375 NaCl. oE = obere Epidermis; PP = Palisadenparenchym; zP = zentrales Parenchym; SP = Schwammparenchym; uE = untere Epidermis.

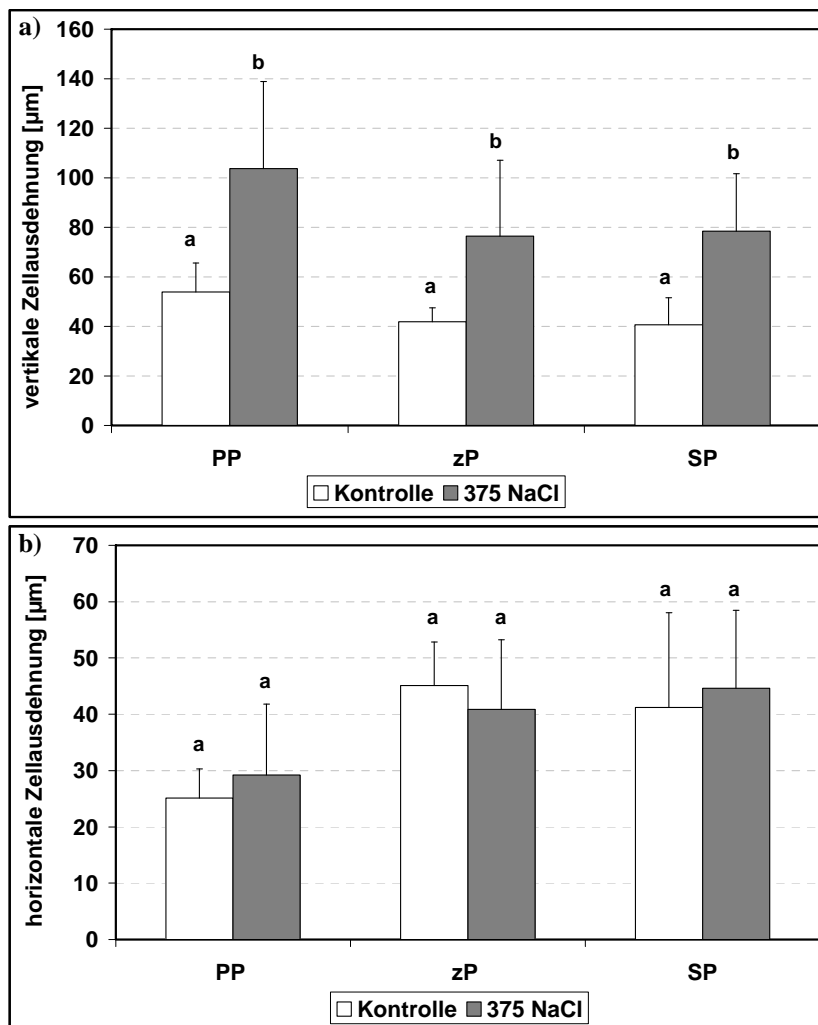


Abb. A2.20. Zellausdehnung bei den Kontrollen und bei 375 NaCl. a) vertikale Ausdehnung; b) horizontale Ausdehnung. PP = Palisadenparenchym; zP = zentrales Parenchym; SP = Schwammparenchym.

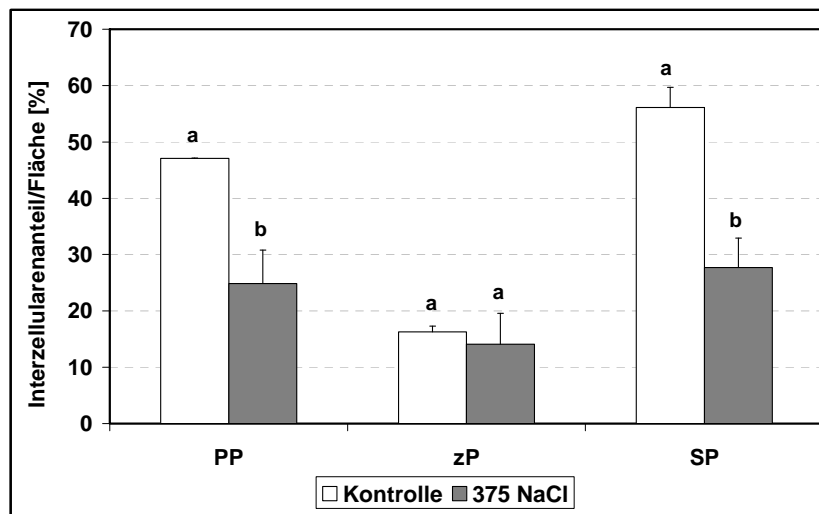


Abb. A2.21. Prozentualer Interzellularenanteil pro Fläche bei den Kontrollen und bei 375 NaCl.
PP = Palisadenparenchym; zP = mittleres Parenchym; SP = Schwammparenchym.